

Aus dem
CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Neurochirurgie
Direktor: Prof. Dr. Peter Vajkoczy

Habilitationsschrift

Experimentelle, translationale und klinische Aspekte der individualisierten Behandlung des Glioblastoms

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Neurochirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von
Dr. Julia Sophie Onken

Eingereicht: Oktober 2019
Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. Henry Schroeder
2. Gutachter: Prof. Dr. Hans Clusmann

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGEN	4
1. EINLEITUNG.....	6
OPERATION	7
HISTOLOGIE	7
ADJUVANTE STANDARDTHERAPIE.....	8
INDIVIDUALISIERTE THERAPIEANSÄTZE	9
<i>Therapiekonzepte bei Glioblastom ohne MGMT-Promotor Methylierung</i>	<i>9</i>
<i>NOA-09 beim MGMT methylierten Glioblastom.....</i>	<i>10</i>
<i>Therapie des älteren Glioblastompatienten</i>	<i>11</i>
<i>Tumortheraiefelder.....</i>	<i>12</i>
TYROSINKINASEREZEPTOREN ALS ZIELSTRUKUR IM GLIOBLASTOM	13
<i>Rolle des Tyrosinkinaserzeptor AXL in Glioblastom</i>	<i>13</i>
ZIELSETZUNG	14
2. EIGENE ARBEITEN	17
ZUSAMMENFASSUNG PUBLIKATION NUMMER EINS:.....	17
<i>Die Hemmung des Tyrosinkinaserzeptors AXL mit einem kleinmolekularen Inhibitor reduziert das Wachstum, die Migration, Invasion und Angiogenese im Glioblastommodell in vitro, ex vivo und in vivo.</i>	<i>17</i>
ZUSAMMENFASSUNG PUBLIKATION NUMMER ZWEI:.....	33
<i>Der prädiktive Wert der MGMT-Promotor-Methylierung liegt über dem biologischen Schwellenwert: Ergebnisse einer Pyrosequenzierungsanalyse anhand einer homogenen Kohorte von IDH-Wildtyp Glioblastomen.</i>	<i>33</i>
ZUSAMMENFASSUNG PUBLIKATION NUMMER DREI:	45
<i>Die lokale, dosisintensivierte Strahlentherapie kann die intrakranielle, lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben bei Patienten mit Glioblastom verbessern.</i>	<i>45</i>
ZUSAMMENFASSUNG PUBLIKATION NUMMER VIER:	46
<i>Akzeptanz und Compliance von Tumortheraiefeldern in der klinischen Routineversorgung von Glioblastompatienten: welche Rolle spielen Krankheitsstadium, Alter und Therapiedauer?</i>	<i>56</i>
ZUSAMMENFASSUNG PUBLIKATION NUMMER FÜNF:	57
<i>Tumortheraiefelder und ihr Einfluss auf die Lebensqualität und Lebensführung von Glioblastompatienten: eine Observationsstudie zweier Zentren.....</i>	<i>66</i>
3. DISKUSSION	76

4. ZUSAMMENFASSUNG	82
5. LITERATURANGABEN.....	84
DANKSAGUNG.....	94
ERKLÄRUNG.....	95
LEBENS LAUF	96

Abkürzungen

AKT	<i>Protein kinase B</i>
ALK	<i>Anaplastic lymphoma kinase</i>
ATRX	<i>Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked</i>
AUC	<i>Area under the curve</i>
AXL	Tyrosinkinaserzeptor AXL
AXL-DN	Dominant negative Rezeptormutante von AXL
AXL-WT	Wildtyp überexprimierende Rezeptormutante von AXL
CCNU	Lomustin
CDK4/6 RB	<i>Cyclin dependent kinase 4/6 Retinoblastom protein</i>
cm	Zentimeter
cMRT	Kraniale Kernspintomographie
dBiSeq	Direkte Bisulfit-Sequenzierung
DNA	<i>Desoxyribonuclein acid</i>
EGFR	<i>Epithelial growth factor receptor</i>
EORTC	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer</i>
ERK	<i>Extracellular signal regulated kinase</i>
Gy	Gray
IHC	Immunhistochemie
IDH	Isocitratdehydrogenase
IONM	Intraoperatives neurophysiologisches Monitoring
kHz	Kiloherz
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
MDM2	<i>Mouse double minute 2 homologue</i>
mg/m ² /KOF	Milligramm pro Quadratmeter Körperoberfläche
MGMT	O(6)-Methylguanin-DNA-Methyltransferase
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
MSP	Methylierungsspezifische PCR
mTOR	<i>Mechanistic target of Rapamycin</i>
P-AXL	Phosphorylierter AXL Rezeptor
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PDL1	<i>Programmed cell death 1 ligand</i>

QLQ BN20	<i>Quality of Life brain cancer module</i>
QLQ FA13	<i>Cancer-related fatigue</i>
QLQ	<i>Quality of Life of Cancer patients</i>
Ras	<i>Rat sarcoma</i>
rHGG	<i>Recurrent high grade glioma</i>
ROC	<i>Receiver operating curve</i>
RTK	Tyrosinkinase-rezeptor
PI3K	Phosphoinositid 3 Kinase
RT	Radiotherapie
Ser	Serin
sq	Semiquantitativ
SSUK-8	Skalen zur sozialen Unterstützung bei Krankheit
TKI	Tyrosinkinaseinhibitor
TMZ	Temozolomid
<i>TTFields</i>	TumortheraPIefelder
WHO	<i>World health organisation</i>
VEGFR	<i>Vascular endothelial growth factor receptor</i>
V	Volt

Für die Lesbarkeit des Textes wurden in dieser Arbeit die feminine und maskuline Form wechselnd verwendet. Die Angaben beziehen sich jedoch auf alle Geschlechter in gleicher Weise.

1. Einleitung

Das Glioblastom ist der häufigste und bösartigste Hirntumor im Erwachsenenalter. Das mediane Erkrankungsalter liegt bei 45-70 Jahren (1). Auch bei multimodaler Therapie mit operativer Resektion, kombinierter Radiochemotherapie gefolgt von einer Erhaltungstherapie mit der alkylierenden Chemotherapie Temozolomid (TMZ) liegt das mittlere Überleben der Patienten bei nur 12-15 Monaten (2, 3). Die Gründe für das mangelnde Therapieansprechen beim Glioblastom sind vielfältig: Die Heterogenität dieser Tumore befähigt sie zur raschen Resistenzentwicklung gegenüber der multimodalen Standardtherapie. (4). Das grundsätzliche Problem in der medikamentösen Behandlung, nämlich die mangelnde Passage von Wirkstoffen über die Blut-Hirnschranke, kommt hinzu (5). Aufgrund der seit Jahrzehnten unverändert schlechten Prognose dieser Erkrankung beschäftigt sich die Wissenschaft mit der Suche nach neuen therapeutischen Zielstrukturen, der Erprobung plausibler Kombinationstherapien und innovativer Therapieformen (z.B. individualisierte Therapieregime, immuntherapeutische Ansätze etc.) (6-9). Ein Anspruch an neue Therapieformen ist es, neben der Verbesserung der Prognose zum Erhalt der Lebensqualität beizutragen. Im Folgenden soll ein Überblick über die gegenwärtigen und zukünftigen Behandlungskonzepte beim Glioblastom gegeben werden.

Operation

Die operative Resektion nimmt eine prognostisch entscheidende Rolle in der Therapie des Glioblastoms ein. Mehrere unabhängige Studien konnten zeigen, dass die vollständige Entfernung des Kontrastmittel aufnehmenden Tumors mit einem signifikanten Überlebensvorteil einhergeht (10-12). Das intraoperative neurophysiologische Monitoring (IONM), die Wachkraniotomie und intraoperative bildgebende Verfahren wie die Neuronavigation, die intraoperative Kernspintomographie (MRT) und die Anwendung von Fluoreszenzfarbstoffen haben entscheidend zur Verbesserung der operativen Ergebnisse und zum Gesamtüberleben der Patienten beigetragen (13-15). Im Falle von nicht resektablen Befunden wie zum Beispiel Hirnstammgliomen oder multifokaler Ausdehnung eines Tumors erfolgt eine Biopsie zur histologischen Sicherung des Befundes.

Histologie

Die Aggressivität der Glioblastome ist durch die hohe Proliferationsrate, intratumorale Heterogenität sowie Neoangiogenese gekennzeichnet (4). In der histopathologischen Begutachtung sind die erhöhte Proliferationsrate, der Nachweis von Gefäßneubildungen und Nekrosezonen pathognomonisch für die Diagnose eines Glioblastoms (16). Die neue WHO Klassifikation der Hirntumore aus dem Jahr 2016 hat nun erstmals eine deutliche Stärkung der molekularen Marker bei der Diagnosestellung von malignen Gliomen und deren Abgrenzung voneinander bewirkt (16). In der klinischen Routine werden folgende molekulare Parameter analysiert: i) Nachweis somatischer Mutationen im Isocitratdehydrogenase (IDH)-Gen, ii) der Methylierungsstatus des O(6)-Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT) Promotors, iii) der Nachweis einer ARTX Mutation (*Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked*) und Nachweis einer Deletion

des Chromosoms 1p19q (16). Das primäre Glioblastom zeigt einen IDH-Wildtyp sowie keine Mutation von ATRX. Ein sekundäres Glioblastom wird diagnostiziert bei histopathologischer Diagnose eines Glioblastoms mit Nachweis einer IDH-Mutation, welches infolge sekundärer Malignisierung eines niedrigergradigen Glioms entstanden ist (17). Die Prognose bei einem IDH-mutierten Glioblastom ist günstiger einzuschätzen als bei einem primären IDH-Wildtyp Glioblastom (18). Dem MGMT-Promotor-Status kommt sowohl eine prognostisch-prädiktive als auch therapeutische Rolle zu (19-22). Mehrere randomisierte Studien haben gezeigt, dass die Methylierung des MGMT-Promotors bei Glioblastompatienten mit einem signifikanten Überlebensvorteil verbunden ist (23). Im Falle einer Methylierung des MGMT-Promotors wird das DNA-Reparaturgen MGMT nicht transkribiert mit der Folge, dass eine vermehrte Empfindlichkeit gegenüber der DNA-schädigenden Radiochemotherapie besteht. Der MGMT-Promotor-Status wird routinemäßig mittels Pyrosequenzierung (PSQ) oder methylierungsspezifischer PCR (MSP) bestimmt (24-26). Einheitliche Standards zur Methodik und Definition von Grenzwerten der quantitativen Bestimmungen des MGMT-Promotor-Status fehlen derzeit noch (19, 21, 22, 25-34).

Adjuvante Standardtherapie

Die adjuvante Standardtherapie nach histologischer Sicherung eines Glioblastoms umfasst eine kombinierte Radiochemotherapie gefolgt von einer Erhaltungstherapie bestehend aus sechs Zyklen TMZ (35). Vier bis maximal sechs Wochen nach der Diagnosestellung sollte die kombinierte Radiochemotherapie eingeleitet werden mit einer stereotaktisch fraktionierten Bestrahlung bis zu einer (kumulativen) Gesamtdosis von 60 Gray (Gy). Simultan hierzu wird TMZ für den gesamten Zeitraum der Bestrahlung mit einer Dosierung von 75mg pro Quadratmeter Körperoberfläche (mg/m²/KOF) pro

Tag oral eingenommen. Nach Abschluss der kombinierten Radiochemotherapie erfolgt dann die TMZ-Erhaltungstherapie mit sechs Zyklen (35). Ein Zyklus beinhaltet die Einnahme von 150-200mg/m²/KOF TMZ an fünf aufeinander folgenden Tagen in einem 28 Tage Zyklus. Der Nadir bildet sich ab Tag 21-28 im Blutbild ab (23, 35). Die bildgebende Nachsorge mit cMRT unter Kontrastmitteleinsatz erfolgt alle drei Monate (36).

Individualisierte Therapieansätze

Seit Einführung der TMZ Chemotherapie mit Erstzulassung in Deutschland im Jahre 1999 hat sich die Prognose für die Patienten mit Glioblastom um etwas sechs Monate verbessert (23, 37, 38). Im Falle einer Methylierung des MGMT-Promotors überleben circa fünf Prozent der Patienten die ersten fünf Jahre nach Diagnosestellung (33). Das heutige Wissen um prognostische Einflussfaktoren und die hohe Relevanz molekularer Marker führt gegenwärtig zu einer gewissen Neubewertung früherer Studienergebnisse. Prognostische Einflussgrößen wie der MGMT-Promotor-Status haben individualisierte Therapieansätze in den Fokus klinischer Studien gestellt.

Therapiekonzepte bei Glioblastom ohne MGMT-Promotor Methylierung

Eine aktuelle Studie, die individualisierte medikamentöse Therapien untersucht, ist die N₂M₂ Neuromaster Match Studie (*ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT03158389) (39). Einbezogen werden Patienten ohne Methylierung des MGMT-Promotors. Basierend auf molekularen Analysen werden individualisierte Therapiekonzepte angewandt mit folgenden Wirkstoffen und assoziierten molekularen Veränderungen: APG101 (CD95-Inhibitor bei Signalwegaktivierung von Akt/ β Catenin), Alectinib (Tyrosinkinaseinhibitor gegen ALK bei Vorliegen einer Punktmutation oder Fusion des ALK Gens), Idasanutlin

(Inhibitor des MDM2 Signalwegs in Verbindung mit p53- Wildtyp Rezeptors), Atezolizumab (Immun-*Checkpoint Inhibitor* gegen *anti-programmed death-ligand 1* (PD1)), Vismodegib (Inhibitor des *Sonic Hedgehog* Signalweges bei PTEN-defizienten Glioblastomen), Temsirolimus (mTOR Inhibitor bei Phosphorylierung des mTOR Rezeptors an Ser2448) oder Palbociclib (Cyclin-abhängige Kinaseinhibitor bei Alteration des CDK4/6-RB Signalweges) (39). Erste Ergebnisse der Studie werden im Jahr 2024 erwartet.

NOA-09 beim MGMT methylierten Glioblastom

Die kürzlich veröffentlichten Daten der NOA-09 Studie (CeTeG-Studie, *ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT01149109) haben eine intensivierete Chemotherapie bestehend aus zwei alkylierenden Chemotherapeutika (CCNU und TMZ) bei Glioblastompatienten mit Methylierung des MGMT-Promotors in der Erstlinientherapie untersucht (40). Im experimentellen Arm (CCNU/TMZ-Arm) erhielten die Patienten 60Gy Standardradiotherapie (30x2Gy) und sechs 42-Tage-Zyklen mit oralem CCNU 100mg/m² KOF (Tag eins) und oralem TMZ 100mg/m² KOF (Tage zwei bis sechs) ab dem ersten Tag der Bestrahlung. Der Kontrollarm bestand aus 60Gy Standardradiotherapie (30x2Gy) und begleitender TMZ Therapie (täglich TMZ 75mg/m² KOF) beginnend mit dem ersten Tag der Radiotherapie gefolgt von sechs 28 Tage Zyklen TMZ (Tage eins bis fünf) beginnend vier Wochen nach Abschluss der Radiotherapie (Dosis 150–200mg/m²/Tag) (40). Das mediane Gesamtüberleben lag bei 31,4 Monaten im Standardarm (n=63) und 48,1 Monate im experimentellen Arm (n=66) (40). Die Ergebnisse der Studie deuten darauf hin, dass neu diagnostizierte Glioblastom Patienten mit Methylierung des MGMT-Promotors von einer intensivierten Erstlinienbehandlung mit CCNU in Kombination mit TMZ profitieren könnten. Die erhöhte Toxizität, die geringe Patientenzahl und die fehlende Signifikanz der

Ergebnisse hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens rechtfertigen zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht den Einsatz dieses Therapieregimes als Standardtherapie beim methylierten Glioblastom (41). Die unterschiedliche Methodik in der MGMT-Promotor-Status Bestimmung stellt eine weitere Limitation der Übertragbarkeit der Ergebnisse in die klinische Routine dar (25).

Therapie des älteren Glioblastompatienten

Das Patientenalter ist neben dem MGMT-Promotor-Status ein weiterer prognostischer Marker beim Glioblastom (22). Die Ergebnisse der NORDIC-Elderly Studie zeigen ein verbessertes Überleben der Patienten im Alter von 60 Jahren und älter, wenn ein verkürztes Bestrahlungsprotokoll (34Gy über 14 Tage) oder die alleinige TMZ-Therapie (Sechs Zyklen Temodal mit 200 mg/kg KOF) anstelle der Standardtherapie erfolgte (42). Eine Subgruppenanalyse deutet darauf hin, dass Patienten mit MGMT-Promotor-Methylierung durch die Monotherapie mit TMZ einen größeren Nutzen haben als durch die Strahlentherapie.

Eine Studie der *Canadian Cancer Trials Group* (CCTG) hat anhand von 562 Patienten im Alter über 65 Jahre zwei Therapieregime verglichen: i) alleinige hypofraktionierte Strahlentherapie (mit 40Gy verteilt auf 15 Fraktionen) und ii) hypofraktionierte Strahlentherapie mit begleitender und adjuvanter TMZ-Therapie (43). Das mediane Gesamtüberleben war bei der Kombination aus Strahlentherapie und TMZ länger als bei alleiniger Strahlentherapie (9,3 vs. 7,6 Monate) wie auch das mediane progressionsfreie Überleben (5,3 vs. 3,9 Monate). Analog den oben genannten Studienergebnissen kann bei dem älteren Glioblastompatienten sowohl nach NOA-08 oder CCTG-Schema behandelt werden (9, 42, 43). Ein guter Allgemeinzustand und ein methylierter MGMT-Promotor

können Argumente für die verkürzte Kombinationsbehandlung aus Bestrahlung und TMZ-Therapie bzw. eine alleinige zyklische TMZ-Therapie sein.

Tumortheraiefelder

Ein neuer Ansatz zur Verbesserung der Tumorkontrolle in Glioblastom ist die Behandlung mit Tumortheraiefeldern (*TTFields*, OPTUNE®, *Novocure* Ltd.). Wechselnde elektrische Felder mit niedriger Intensität (1-3V/cm) und Frequenz (200kHz) werden an die supratentoriellen Regionen des Gehirns abgegeben über vier Klebe-*Arrays*, die auf die rasierte Kopfhaut aufgebracht werden (44). Das elektromagnetische Feld hindert die Tumorzelle in der Mitose an der Zellteilung und induziert somit die mitotische Katastrophe (45, 46). Aufgrund der Länge eines Zellzyklus und der asynchronen Zellteilung muss die Therapie mindestens 18 Stunden pro Tag angewendet werden, um effektiv zu sein (46-48). Die Effektivität von *TTFields* wurde zunächst bei rezidierten Glioblastomen untersucht. In der EF-11 Studie (*ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT00379470) erwies sich die Therapie als gleichwertig in der Monotherapie eines rezidierten Glioblastoms gegenüber anderen Therapien der Wahl (49). Das Gesamtüberleben konnte allerdings nicht verbessert werden (49). Lokale Hautreizungen waren der häufigste Grund für Therapieunterbrechungen, systemische Nebenwirkungen der Therapie sind nicht bekannt. Die EF-14 Studie (*ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT00916409) zeigte, dass die Anwendung von *TTFields* in Kombination mit der zyklischen TMZ-Therapie bei Patienten mit neu diagnostiziertem Glioblastom sowohl das progressionsfreie Überleben als auch das Gesamtüberleben signifikant um 2,7 bzw. 4,9 Monate verlängert (50). Die Studienergebnisse werden kontrovers diskutiert aufgrund der fehlenden Placebo- Kontrolle, den hohen Therapiekosten und der nachweislich erhöhten medizinischen und sozialen Zuwendung in der Interventionsgruppe und damit

möglicherweise besserem *Outcome* der Patienten (44, 51, 52). Die Befürchtung einer zusätzlichen Einschränkung der Lebensqualität der Patienten unter *TTFields* blieb unbestätigt. Die Evaluierung mit den EORTC-Fragebögen zur Lebensqualität erbrachte keine signifikanten Unterschiede (53, 54). Detaillierte Untersuchungen zu Auswirkungen von *TTFields* auf das tägliche Leben und deren Umfeld stehen bisher aus.

Tyrosinkinaserzeptoren als Zielstruktur im Glioblastom

Auf experimenteller Ebene wird intensiv nach möglichen Schlüsselmolekülen der Entstehung und Behandlung von Glioblastomen geforscht. Eine vielversprechende Zielstruktur stellen die Tyrosinkinaserzeptoren (RTKs) dar (55-58). RTKs sind an der Tumorzellmembran lokalisiert und werden zumeist durch Binden eines spezifischen Liganden aktiviert (59). Nach Aktivierung signalisieren RTKs über zwei wichtige *downstream* Pfade: Ras/MAPK/ERK und Ras/PI3K/AKT (59, 60). Diese Signalwege sind an der Regulation von Zellproliferation, Überleben, Differenzierung und Angiogenese beteiligt. In der Glioblastomforschung sind die prominentesten RTKs der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) und der vaskuläre, endotheliale Wachstumsfaktor-Rezeptor (VEGFR) (61, 62). Therapeutische Hemmversuche blieben bisher leider ohne Erfolg in klinischen Studien (7, 63).

Rolle des Tyrosinkinaserzeptor AXL in Glioblastom

Der RTK AXL ist ein transmembranärer Rezeptor mit einer extra- und intrazellulären Domäne. Durch Binden seines spezifischen Liganden Gas6 dimerisiert der Rezeptor und die intrazelluläre Domäne wird phosphoryliert (64-66). Hierdurch werden eine Reihe von intrazellulären Signalmolekülen aktiviert, wie AKT/ERK, STAT, Caspase 3 etc. (60, 67). In verschiedenen Malignomen ist AXL an der Regulation von Proliferation, Migration,

Invasion, Angiogenese und Resistenzentwicklung beteiligt. Im Glioblastom ist AXL und sein Ligand Gas6 ebenfalls exprimiert (64, 66, 68, 69). Eine Überexpression von AXL und Gas6 ist laut Hutterer et al. mit einem reduzierten progressionsfreien Überleben und verkürzten Gesamtüberleben bei Patienten mit Glioblastom verbunden (70). Grundlagenwissenschaftliche Arbeiten konnten anhand einer AXL-überexprimierenden Zelllinie (AXL-WT) sowie einer dominant negativen rezeptormutanten Gliomzelllinie (AXL-DN) die onkogene Eigenschaft von AXL bestätigen. Im orthotropen Xenograftmodell zeigten die Mäuse mit Tumor aus AXL-DN Zellen ein signifikant verlängertes Überleben im Vergleich zu den AXL-WT Zellen (Überlebenszeit: AXL-WT, zehn Tage; AXL-DN, >72 Tage) (71). Mechanistisch hatte die veränderte AXL Expression Einfluss auf die Zellproliferation, Migration und die Invasion. Erkenntnisse aus der experimentellen Glioblastomforschung und anderen Tumorentitäten gaben den Anstoß zur Entwicklung von spezifischen Inhibitoren des AXL Signalweges. Die Sicherheit und Effektivität dieser Therapien ist Gegenstand zahlreicher Studien (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03965494, NCT02729298, NCT03572634 etc.*)

Zielsetzung

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist es, neue Aspekte der experimentellen, translationalen und klinischen Forschung bei der individualisierten Behandlung des Glioblastoms darzustellen. Die Arbeiten befassen sich mit präklinischen und klinischen Ansatzpunkten der individualisierten Behandlung des Glioblastoms, der Definition geeigneter Einschlusskriterien für ein klinisches Studiendesign und der Interpretation von aktuellen Studienergebnissen sowie deren Übertragbarkeit auf die klinische Routineversorgung.

Publikation eins befasst sich mit der experimentellen Forschung zur Effektivität eines kleinmolekularen Inhibitors der RTK AXL *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo*. Zudem wird das Expressionsprofil der aktivierten RTK AXL (P-AXL) im humanen Glioblastom untersucht. Diese Arbeit soll die Grundlage bilden für die präklinische Weiterentwicklung von AXL Inhibitoren im Glioblastom und Translation der Ergebnisse in ein klinisches Studiendesign.

Publikation zwei thematisiert die Ermittlung des prädiktiven Schwellenwertes der MGMT-Promotor-Methylierung. Aufgrund der unterschiedlichen Anforderungen und Voraussetzungen einzelner Methoden zur Bestimmung des MGMT-Promotor-Status besteht gegenwärtig kein internationaler Standard. Diese Arbeit zielt darauf ab, den prädiktiven Schwellenwert für die MGMT-Promotor-Methylierung anhand der Pyrosequenzierung zu definieren und somit MGMT-basierte Therapieentscheidungen zu erleichtern.

Publikation drei beinhaltet klinische Daten zur individualisierten Bestrahlungsplanung von Glioblastompatienten. Untersucht wird die Effektivität einer dosiseskalierten Bestrahlung mit 66Gy im Vergleich zum Standardprotokoll mit 60Gy. Als primärer Endpunkt sind progressionsfreies und Gesamtüberleben definiert. Molekulare Marker wie der IDH-Status und der MGMT-Promotor-Status wurden bei der Auswertung berücksichtigt.

Publikation vier und fünf beschäftigen sich mit der Akzeptanz, *Compliance* und Alltagsintegrität innovativer Therapiekonzepte am Beispiel von *TTFields*. Anhand eines detaillierten Fragebogens wurden zahlreiche Aspekte zur selbständigen Lebensführung und Lebensqualität unter *TTFields* erfasst und mit einer Kontrollpopulation verglichen. Die Daten aus Publikation vier und fünf liefern Einblicke zu Einflussfaktoren auf Akzeptanz und *Compliance* gegenüber *TTFields* in der klinischen Routineversorgung und

alltagsrelevanten Einschränkungen aus Sicht der Patienten. Zudem geben sie Anstoß zur patientenorientierten Weiterentwicklung dieser aufwendigen Therapieform.

2. Eigene Arbeiten

Zusammenfassung Publikation Nummer eins:

Die Hemmung des Tyrosinkinase-Rezeptors AXL mit einem kleinenmolekularen Inhibitor reduziert das Wachstum, die Migration, Invasion und Angiogenese im Glioblastommodell *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo*.

Der Tyrosinkinase-Rezeptor AXL (RTK AXL) gilt als vielversprechende Zielstruktur in der Bekämpfung des Glioblastoms (66). Vorangegangene Studien konnten zeigen, dass eine Überexpression des Rezeptors die Proliferation und Migration steigert (71). Mit dieser Studie soll der Einfluss des spezifischen AXL-Inhibitors BMS-777607 am Glioblastommodell *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo* untersucht werden (72).

Für die Experimente wurden die Glioblastomzelllinien SF126 und U118MG verwendet. Der Effekt des Inhibitors BMS-777607 auf Proliferation, Apoptose, Migration, Invasion und Angiogenese wurde in dem MTT Assay, *Boyden Chamber Migration*, *Brain Slice Invasion* und *Tube Formation Assay* getestet. Für das *in vivo* Modell wurden die Tumorzelllinien in Nacktmäuse intrakraniell injiziert. Das Tumorstadium wurde mittels Kontrastmittelgestützter MRT untersucht. Es erfolgten immunhistochemische Färbungen (IHC) zur Darstellung von Proliferation, Gefäßneubildung und Apoptose. Menschliches Glioblastomgewebe wurde hinsichtlich der AXL Phosphorylierung (P-AXL) im Westernblot und immunhistochemisch analysiert.

Unter Behandlung mit BMS-777607 konnte eine erhöhte Apoptose, verminderte Proliferation, Invasion und Migration *in vitro* und *ex vivo* in beiden Zelllinien detektiert werden. *In vivo* wurde eine Verringerung des Tumorstadiums um 56% in dem SF126 Xenograftmodell und um 91% im U118MG Xenograftmodell beobachtet. Im

Angiogeneseassay zeigte sich die antiangiogene Wirkung von BMS-777607, die auch in Tumorxenograft bestätigt werden konnte. Hier kam es zu einer deutlich verminderten Gefäßdichte und -durchmesser in der behandelten Gruppe. In den humanen Proben lokalisierten wir P-AXL in hyperzellulären Tumorregionen, im Bereich der Pseudopalisaden und in Gefäßproliferaten. P-AXL wurde im primären und rezidierten Glioblastom nachgewiesen.

Zusammenfassend hat sich die medikamentöse Hemmung des Rezeptors mit BMS-777607 *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo* als wirksam erwiesen und hat zu einem beeindruckenden Effekt im Tiermodell geführt. Die ubiquitäre P-AXL Expression im humanen Glioblastom unterstreicht die Bedeutung von AXL als therapeutische Zielstruktur sowohl in der Primärtherapie als auch im Rezidivfall.

(Inhibiting receptor tyrosine kinase AXL with small molecule inhibitor BMS-777607 reduces glioblastoma growth, migration, and invasion in vitro and in vivo. Onken J, Torka R, Korsing S, Radke J, Krementeskaia I, Nieminen M, Bai X, Ullrich A, Heppner F, Vajkoczy P. Oncotarget. 2016 Mar 1;7(9):9876-89. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7130>)

Zusammenfassung Publikation Nummer zwei:**Der prädiktive Wert der MGMT-Promotor-Methylierung liegt über dem biologischen Schwellenwert: Ergebnisse einer Pyrosequenzierungsanalyse anhand einer homogenen Kohorte von IDH-Wildtyp Glioblastomen.**

Für die Translation experimenteller Therapien wie beispielsweise der AXL-Inhibition in ein klinisches Studiendesign ist die Definition prognostischer Einflussgrößen entscheidend. Ein prognostisch und prädiktiver Marker ist der Methylierungsstatus der O⁶-Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT) (73). Präzise prädiktive Grenzwerte zur Unterscheidung von "MGMT methylierten" und "MGMT unmethylierten" Gewebe sind Gegenstand der wissenschaftlichen Debatte (21, 33, 34). Die Verwendung unterschiedlicher Methoden zur MGMT-Promotor-Status Bestimmung als auch die interindividuellen Unterschiede der Grenzwertbestimmung einzelner Institute sind Ursachen für einen fehlenden internationalen Standard.

Die vorgelegte Studie zielt darauf ab, den prädiktiven Schwellenwert der MGMT-Promotor-Methylierung einer gut charakterisierten Gruppe von Patienten anhand der Pyrosequenzierung (PSQ) zu erheben (74).

Wir analysierten hierfür eine Kohorte von 111 Patienten mit der Diagnose eines Glioblastoms. Einschlusskriterien waren ein gesichertes IDH-Wildtyp Glioblastom, Komplettresektion des kontrastmittelaufnehmenden Tumors und Start mit der adjuvanten Standardtherapie innerhalb von vier Wochen nach der Operation. Statistisch wurde der prädiktive Grenzwert für die MGMT-Promotor-Methylierung mittels ROC-Analyse und dem Vergleich von Kaplan-Meier Überlebenskurven (Log-Rank (Mantel-Cox)-Test) ermittelt. Der MGMT-Promotor-Status wurde mit drei unterschiedlichen

Methoden überprüft: PSQ, semiquantitative, methylierungsspezifische PCR (sqMSP) und direkter Bisulfitsequenzierung (dBiSeq) analysiert.

Eine deutliche Methylierung (>20%) des MGMT-Promotors korrelierte mit einem signifikant verbesserten progressionsfreien Überleben und Gesamtüberleben in unserer Kohorte. Das mittlere progressionsfreie Überleben betrug 7,2 Monate in der unmethylierten Gruppe (UM, <10% Mittelwert), 10,4 Monate in der gering methylierten Gruppe (LM, 10-20% Mittelwert) und 19,83 Monate in der hoch methylierten Gruppe (HM, >20% Mittelwert). Das mediane Gesamtüberleben betrug 13,4 Monate für UM, 17,9 Monate für LM und 29,9 Monate für HM. Innerhalb der LM Gruppe waren die Ergebnisse von PSQ und sqMSP oder dBiSeq in nur 51,5% übereinstimmend. Die ROC-Analyse ergab eine überlegene Testgenauigkeit für das Überleben, wenn zusätzlich die Ergebnisse der sqMSP berücksichtigt wurden aus der LM Gruppe (AUC=0,76 im Vergleich zur alleinigen PSQ (Grenzwert 10%, AUC=0,67)).

Zusammenfassend legen die Ergebnisse nahe, dass der weitläufig verwendete Schwellenwert einer mittleren Methylierung von 10% das klinische Ansprechen auf alkylierende Chemotherapie nicht vollständig wiedergibt. Im Falle von therapeutischen Konsequenzen und damit möglicherweise erhöhtem Risikoprofil für den Patienten (z.B. dosisintensiviertes Chemotherapieregime bei MGMT methylierten Patienten) sollte insbesondere in der LM Gruppe eine zweite Methode genutzt werden, um die PSQ Ergebnisse zu bestätigen.

(Predictive MGMT status in a homogeneous cohort of IDH wildtype glioblastoma patients.

Radke J, Koch A, Pritsch F, Schumann E, Misch M, Hempt C, Lenz K, Löbel F, Paschereit F, Heppner FL, Vajkoczy P, Koll R, Onken J. Acta Neuropathol Commun. 2019 Jun 5;7(1):89.

<https://doi.org/10.1186/s40478-019-0745-z>)

Zusammenfassung Publikation Nummer drei:

Die lokale, dosisintensivierte Strahlentherapie kann die intrakranielle, lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben bei Patienten mit Glioblastom verbessern.

Individualisierte Therapiekonzepte des Glioblastom sind gegenwärtig überwiegend durch den MGMT-Promotor-Methylierungsstatus und vom Patientenalter beeinflusst (8, 41, 75). Etablierte, individualisierte Therapieansätze in der Strahlentherapie finden sich fast ausschließlich für ältere Patienten über 65 Jahre (42, 43). Glioblastome gelten als verhältnismäßig unempfindlich gegenüber der Radiotherapie und werden daher üblicherweise mit 60Gy kumulativer Gesamtdosis bestrahlt (76). Aufgrund der raschen Resistenzentwicklung kommt es meist innerhalb des ersten Jahres nach Diagnosestellung zu einem Rezidiv. Die Rezidive treten überwiegend im Randbereich der vormaligen Resektionshöhle und im Bestrahlungsfeld (*in field recurrence*) auf (77).

In dieser Studie soll daher eine moderate Dosisescalation in dieser Region mit einer Bestrahlung von 66Gy (Interventionsgruppe) gegenüber der konventionellen Bestrahlung mit einer Dosis von 60Gy (Kontrollgruppe) verglichen werden (78).

Die retrospektive Studienkohorte umfasst 156 Patienten, die zwischen 2009 und 2016 behandelt wurden. Alle anderen Patienten erhielten eine tägliche Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 60Gy oder zweimal täglich mit einer Gesamtdosis von 59,2Gy. In der Interventionsgruppe wurde ein simultan integrierter *Boost* in kleinen Volumina im Randbereich der Resektionshöhle appliziert. Insgesamt erhielten 133 Patienten die Standardtherapie, 23 Patienten erhielten die Dosisescalation. Die Patienten in der Interventionsgruppe waren jünger ($p < 0,001$), während der gleichzeitige Einsatz von TMZ

in der Kontrollgruppe häufiger war ($p < 0,001$). Die übrigen prognostisch relevanten Faktoren waren in beiden Gruppen gleich verteilt.

Das progressionsfreie Überleben war in der Interventionsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant verlängert (12,2 gegenüber 7,6 Monate, $p = 0,011$), ebenso wie das Gesamtüberleben (18,8 gegenüber 15,3 Monate, $p = 0,012$). Auch unter Berücksichtigung prognostischer und molekularer Marker bestätigte sich der positive Effekt der dosisintensivierten Bestrahlung. Die Therapie war gut verträglich und führte zu keinen adversen Effekten.

Zusammenfassend konnten wir mit dieser retrospektiven Arbeit zeigen, dass die dosisintensivierte Bestrahlung eine verbesserte Effektivität bei gleichbleibendem Nebenwirkungsprofil gegenüber der Standardtherapie aufweist. Für die Bestätigung dieser Ergebnisse ist eine prospektive Studie mit größerer Patientenzahl notwendig. Die Daten legen nahe, dass individualisierte Therapiekonzepte in der Radiotherapie des Glioblastom weiterverfolgt werden sollten.

(Locally dose-escalated radiotherapy may improve intracranial local control and overall survival among patients with glioblastoma. Zschaeck S, Wust P, Graf R, Misch M, Onken J, Ghadjar P, Badakhshi H, Florange J, Budach V, Kaul K. Radiation Oncology (2018) 13:251. <https://doi.org/10.1186/s13014-018-1194-8>)

Zusammenfassung Publikation Nummer vier:**Akzeptanz und *Compliance* von Tumortherapiefeldern in der klinischen Routineversorgung von Glioblastompatienten: welche Rolle spielen Krankheitsstadium, Alter und Therapiedauer?**

Eine erfolgreiche Einführung innovativer Therapiekonzepte in der Behandlung von Tumorerkrankungen setzt eine belastbare Datenlage und eine hohe Akzeptanz und *Compliance* gegenüber der Therapie von Seiten der Ärzte und Patienten voraus (51, 52). Die Behandlung mit Tumortherapiefeldern (*TTFields*) kann sowohl das progressionsfreie als auch das Gesamtüberleben bei Patienten mit neu diagnostiziertem Glioblastom signifikant verlängern (50). Allerdings sind *TTFields* mit einer Therapiedauer von mindestens 18 Stunden pro Tag, dem veränderten äußeren Erscheinungsbild und Wechseln der Klebarrays alle drei Tage mit einem hohen Aufwand für die Patienten verbunden. Die genannten Faktoren als auch Limitationen des Studiendesigns bewirkten bei vielen Ärzten eine Zurückhaltung hinsichtlich der Beratung über und Verordnung von *TTFields*.

In der vorgelegten Arbeit werden erstmals Daten zur Akzeptanz und *Compliance* von *TTFields* in der klinischen Routineversorgung präsentiert. Erfasst wurde, wie häufig eine Therapieempfehlung für *TTFields* ausgesprochen wurde und wie hoch die Akzeptanz bei den Patienten war, des Weiteren wurden klinische Parameter mit der Therapie*compliance* korreliert (79).

Die Daten zur täglichen Therapiedauer wurden lückenlos bei 41 Patienten mit malignen Gliom erfasst und mit folgenden Faktoren korreliert: Alter, Geschlecht, Krankheitsstadium, Komorbiditäten und Therapiedauer. Die Daten zeigen, dass nur 30% der Patienten mit Primärdiagnose eines Glioblastoms *TTFields* als additive Behandlung

angeboten bekamen. Die Akzeptanzrate bei diesen Patienten betrug 36%. Sowohl Patienten mit neu diagnostiziertem Glioblastom (57%), als auch Patienten in der Rezidivsituation wiesen eine *Therapiecompliance* von durchschnittlich 87% auf und lagen damit deutlich über den geforderten 75%. Die Studie zeigte, dass weder Alter, noch Geschlecht oder Krankheitsstadium einen negativen Einfluss auf die *Compliance* hatten. Zudem gab es keine negative Korrelation zwischen *Therapiecompliance* und Gesamttherapiedauer.

Zusammenfassend zeigt diese Arbeit, dass die Akzeptanz gegenüber *TTFields* gering ist. Eine sorgfältige Patienteninformation führt wiederum zu einer hohen *Therapiecompliance*, so dass der Einsatz von *TTFields* auch bei älteren und neurologisch eingeschränkten Patienten gerechtfertigt scheint.

(Acceptance and compliance of TTFields treatment among high grade glioma patients.

Onken J, Staub-Bartelt F, Vajkoczy P, Misch M. *J Neurooncol.* 2018 Aug;139(1):177-184.

<https://doi.org/10.1007/s11060-018-2858-9>)

Zusammenfassung Publikation Nummer fünf:**TumortheraPIefelder und ihr Einfluss auf die Lebensqualität und Lebensführung von Glioblastompatienten: eine Observationsstudie zweier Zentren.**

TumortheraPIefelder (*TTFields*) in Kombination zur Standard Erstlinientherapie verbessern die Prognose von Glioblastompatienten signifikant sofern eine tägliche Therapiedauer von 18 Stunden erreicht wird (48, 50). Kritiker befürchtet negative Auswirkungen der Therapie auf die Lebensqualität der Patienten bedingt durch die lange Therapiedauer, das veränderte äußere Erscheinungsbild und die hohen, technischen Anforderungen.

Bisher existieren keine Daten zu *TTFields*-spezifischen Einschränkungen auf das tägliche Leben der Patienten. In diesem Kontext haben wir einen Fragebogen konzipiert, der auf spezifische Probleme der Behandlung mit *TTFields* und deren konkreten Einfluss auf den Alltag der Patienten eingeht (80).

Die Studie wurde an zwei Zentren durchgeführt. Einschlusskriterien waren eine Therapiedauer von zwei Monaten mit *TTFields* in Kombination mit der Standardchemotherapie Temodal. Der Fragebogen wurde von 30 konsekutiven Patienten mit *TTFields* Behandlung ausgefüllt. Die Kontrollgruppe bestand aus 27 Patienten, die ausschließlich die Erhaltungstherapie mit TMZ erhalten haben. Folgende validierte Fragebögen wurden von der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe ausgefüllt: EORTC (*European Organization for Research and Treatment of Cancer*) QLQ- 30 (*Quality of Life of Cancer patients*), QLQ BN20 (*Quality of Life brain cancer module*), QLQ FA13 (*Cancer-related fatigue*) und SSUK-8 (*Social Support*) (81-85).

Die Ergebnisse der validierten Fragebögen wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen auf. Die Patienten beider Gruppen zeigten eine bessere körperliche, emotionale und kognitive Funktion im Vergleich zur Rollenfunktion und sozialen Funktion (EORTC QLQ-C30). Die häufigsten Symptome waren Müdigkeit, Schlaflosigkeit, Verstopfung aber auch finanzielle Schwierigkeiten (EORTC QLQ-C30). Hirntumorspezifische Symptome waren in absteigender Häufigkeit: Zukunftsangst, Müdigkeit, motorische Dysfunktion/Beinschwäche und Kommunikationsdefizite (EORTC QLQ-BN20). Die Patienten der Interventionsgruppe berichteten häufiger über positive soziale Unterstützung und über ein niedriges Niveau negativer sozialer Interaktionen. Die Auswertung des *TTFields*-spezifischen Fragebogens zeigt, dass 71% der Patienten im täglichen Leben mindestens zwei bis drei Mal pro Woche bis zu mehrmals pro Tag eingeschränkt sind. Die täglichen Einschränkungen wurden der langen Therapiedauer (74%), der Größe (66%) und des Gewichtes (70%) des Gerätes und Wechselzeit und Anbringen der *Transducer-Arrays* (66%, mittlere Dauer: 43,6 Minuten) zugeschrieben. Am schwersten wogen die Einschränkungen durch *TTFields* bei der Ausübung von Hobbys/Arbeit (63%/61%), Körperpflege (71%) und Sexualität/Beziehung (64%). Trotz der weitreichenden und alltäglichen Einschränkungen von *TTFields* auf den Alltag würden 70% der Patienten eine Behandlung mit *TTFields* anderen Betroffenen empfehlen. 67% der Befragten würden die Behandlung von *TTFields* aufgrund der eigenen Erfahrungen wieder durchführen.

Zusammenfassend zeigen die Daten, dass eine sorgfältige Patientenauswahl in Hinblick auf die deutlichen Einschränkungen durch *TTFields* im Alltag wichtig ist und in einer hohen Therapie*compliance* resultiert. Die erhobenen Daten liefern eine wertvolle Basis für das Aufklärungsgespräch mit dem Patienten und können dazu beitragen, die Therapieentscheidung für bzw. gegen eine Behandlung mit *TTFields* zu erleichtern.

Ferner können die Erkenntnisse aus dieser Arbeit für eine patientenorientierte Weiterentwicklung des Gerätes genutzt werden.

(Patient Reported Outcome (PRO) among High-Grade Glioma Patients Receiving TTFields Treatment: a Two Center Observational Study. Julia Onken, Ute Goerling, Marcel Heinrich, Stephanie Pleissner, Dietmar Krex, Peter Vajkoczy, Martin Misch. Front. Neurol. Front. Neurol. 2019. 10:1026. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01026>)

3. Diskussion

Die Glioblastomforschung ist aufgrund der seit Jahrzehnten unverändert schlechten Prognose für die Patienten auf innovative und praktikable Behandlungskonzepte angewiesen. Ein potentiell *Target* in der Behandlung des Glioblastoms kann die RTK AXL darstellen (64, 86, 87). In der vorgelegten Arbeit konnte gezeigt werden, dass AXL bei einem Großteil der Glioblastompatienten exprimiert wird und seine biologisch aktive Form in den malignitätsbestimmenden Arealen des Glioblastoms zu finden ist (72). In einer weiterführenden Arbeit konnten wir zeigen, dass drei Expressionsmuster von P-AXL voneinander abgegrenzt werden können und diese jeweils mit einer unterschiedlichen Prognose einhergehen (88). Die AXL Aktivierung war entweder isoliert im Gefäßsystem des Glioblastoms zu finden oder im Tumorgewebe mit Aussparung der Gefäße oder im Gefäßsystem und dem Tumorgewebe (88). Die simultane Expression von P-AXL im Gefäßsystem und dem Tumorgewebe war mit der schlechtesten Prognose verbunden (88). Weiterführende Studien sind erforderlich, um die Hintergründe der differentiellen AXL Expression im Glioblastom besser zu verstehen im Hinblick auf zukünftige klinische Studien. Die therapeutische Inhibition des Rezeptors hat bereits für vielversprechende Daten im Glioblastommodell *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo* geführt. Wir konnten zeigen, dass unter AXL-Inhibition Proliferation, Invasion, Neoangiogenese und intrazerebrales Tumorwachstum supprimiert werden (71, 72). Zudem scheint AXL sowohl in der Tumorentstehung als auch in der Progression und Resistenzentwicklung gegenüber der konventionellen Therapie eine Rolle zu spielen (69, 89-91). Bisher noch unveröffentlichte Daten aus unserer Arbeitsgruppe deuten darauf hin, dass die Strahlensensitivität einer AXL überexprimierenden Glioblastomzelllinie abnimmt. Die Sicherheit und Effektivität von AXL Inhibitoren muss nun in klinischen Phase-1 Studien

überprüft werden. Eine erste klinische Phase-1 Studie im Glioblastom ist unlängst gestartet (*ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT03965494). Trotz der sehr vielversprechenden experimentellen Daten unterschiedlicher RTK im Glioblastom zeigt die Erfahrung aus vorangegangenen Studien, dass sich die Ergebnisse im klinischen *Setting* nur selten reproduzieren ließen (60, 63, 92). Für den Misserfolg von RTK-Inhibitoren im Glioblastom werden unterschiedliche Ursachen diskutiert. Die Inhibitoren kamen in den Studien überwiegend in Kombination mit anderen Präparaten zum Einsatz was in einer erhöhten Toxizität mündete (63, 93, 94). Zum anderen konnten die Effekte des Inhibitors am Zielmolekül bzw. den Signalmolekülen nur inkonsistent nachgewiesen werden, was für eine unzureichende Penetranz der Substanzen über die Bluthirnschranke sprechen könnte (Bioverfügbarkeit) und/oder als eine rasche Resistenzentwicklung durch Aktivieren alternativer Reaktionspfade in der Zelle (*kinase switch*) interpretiert werden muss (95). Im Falle der EGFR-Inhibition bei EGFR-amplifizierten Glioblastomen war unter anderem ein Relevanzverlust des EGFR Signalweges im fortgeschrittenen Krankheitsstadium ursächlich für die ausbleibenden Erfolge in klinischen Studien (63). Diese Ergebnisse machen deutlich wie essentiell die detaillierte Kenntnis und präklinische Charakterisierung eines Zielmoleküls ist, um eine aussagekräftige, klinische Studien zu planen. Am Beispiel der RTK AXL sollten aus unserer Sicht die unterschiedlichen Expressionsmuster von P-AXL bei der Patientenstratifizierung für ein klinisches Studiedesign berücksichtigt werden. Sie könnten ein Indikator für ein differentielles Ansprechen einer zielgerichteten Therapie darstellen. Ferner sind weiterführenden Studien notwendig, um Erkenntnisse zu geeigneten Kombinationstherapien (z. B. AXL Inhibitor in Kombination mit der Strahlentherapie) sowie des optimalen Zeitpunktes der Behandlung mit AXL Inhibitoren (z. B. Primärsituation versus Rezidivsituation) zu erlangen (87, 96).

Für ein gelungenes klinisches Studiendesign müssen zudem vielfältige Aspekte aus unterschiedlichen Fachdisziplinen berücksichtigt werden. Ein enger Austausch zwischen Neuroonkologie, Neurochirurgie, Neuroradiologie, Neuropathologie sowie Strahlentherapie ist für die Definition von Einschlusskriterien und Endpunkten wesentlich. Beim Glioblastom sind Patientenalter, der *Karnofsky Performance Score*, das Resektionsausmaß und die molekulare Befundkonstellation (IDH-Status, MGMT-Status etc.) als prädiktive Marker definiert. In diesem Kontext haben wir uns mit der Definition des MGMT-Promotor-Status als prädiktivem und prognostischem Marker beschäftigt. Bisher existiert kein internationaler Standard in der Methodik und Grenzwertbestimmung des MGMT-Promotor-Status (97). Die qualitative MSP wie auch die quantitative PSQ sind gleichermaßen anerkannte Verfahren (31, 98). Die Abgrenzung zwischen dem biologischen und prädiktiven Schwellenwert der MGMT-Promotor-Methylierung ist Gegenstand der wissenschaftlichen Debatte und wesentlich für das Design und die Interpretation von klinischen Studien (*ClinicalTrials.gov Identifier*: NCT03158389, NCT01149109, NCT02977780 etc.) (39, 40). Mit unseren Daten konnten wir anhand einer sehr gut charakterisierten Gruppe von Glioblastompatienten zeigen, dass der biologisch determinierte Schwellenwert zur Definition von „methylierten“ versus „nicht-methylierten“ Gewebe nicht vollständig mit dem prädiktiven Wert übereinstimmt (74). Das Therapieansprechen auf die Standardtherapie war unseren Daten zufolge bei Patienten mit 10-20% Methylierung des MGMT-Promotor nur unwesentlich von dem unmethylierter Patienten zu unterscheiden. Wohingegen Patienten mit einer Methylierung von über 20% einen deutlichen Überlebensvorteil gegenüber den beiden anderen Gruppen hatten. Eine kürzlich erschienene Arbeit von Hegi et al. bestätigt unsere Daten eines methodischen und prognostischen „Graubereichs“ (99), der unseren Daten zufolge im Bereich 10-20% Methylierung liegt.

Interessanterweise konnten wir durch Hinzunahme einer zweiten Methode (MSP) in der Gruppe der 10-20% methylierten Patienten die Testpräzision erhöhen. Wir folgern daher, dass im Falle von therapeutischen Konsequenzen für den Patienten die Durchführung einer zweiten Methode diskutiert werden sollte, um die diagnostische Trennschärfe der PSQ zu erhöhen (41). Eine internationale Standardisierung der Methodik zur MGMT-Promotor Bestimmung wäre wünschenswert, unterschiedliche ökologische und methodische Anforderungen (Probenvolumen etc.) werden auch zukünftig eine Hürde darstellen. Vor diesem Hintergrund sollte aus unserer Sicht eine zentrumsspezifische Validierung der Schwellenwerte durchgeführt werden, um individualisierte Therapiekonzepte basierend auf dem MGMT-Promotor-Status zu rechtfertigen.

Neben individualisierten Therapiekonzepten der Systemtherapie kommen auch in der Strahlentherapie individualisierte Protokolle zur Behandlung des Glioblastoms zum Einsatz. Orientierend am Patientenalter, der Tumorlokalisation und dem Allgemeinzustand des Patienten wurden sowohl verkürzte Bestrahlungsprotokolle als auch intensiviertere Therapieregime verfolgt (76, 100). Wir konnten anhand der vorgelegten Studie zeigen, dass eine dosisintensivierte Bestrahlung mit einer verbesserten lokalen Kontrolle verbunden zu sein scheint und mit einer guten Verträglichkeit einhergeht (78). Die Limitation der Studie liegt in der geringen Fallzahl der Interventionsgruppe, so dass über die Effektivität der Dosisescalation noch keine endgültigen Schlüsse gezogen werden können. Unter Dosisescalation traten keine vermehrten Nebenwirkungen auf, so dass das Verfahren als eine sichere Methode bezeichnet werden kann. Prospektive Studien zur Überprüfung der Effektivität und Sicherheit individualisierter Bestrahlungskonzepte bei Glioblastom stehen gegenwärtig noch aus. Herausforderungen eines klinischen Studiendesigns in der Strahlentherapie sind die Definition geeigneter Endpunkte (101-104). Phänomenen wie der

Pseudoprogression und Strahlennekrose müssen bei der Interpretation der Bildgebung im Rahmen der Nachsorge besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden. Bis heute sind keine prädiktiven Marker bekannt, die das Ansprechen von Glioblastom auf die Strahlentherapie vorhersagen. Ein interessanter Aspekt für zukünftige Studien könnte daher die genetische Analyse von Primärtumoren und Rezidivgewebe hinsichtlich einer radiosensitiven Signatur darstellen (*Genomics*). Zudem könnte die Integration von *big data*-Informationen (*Radiomics*) unterschiedlicher bildgebender Verfahren (z. B. MRT, FET-PET) als auch ein verbesserter Informationstransfer aus dem Operationssaal (z.B. intraoperative Markierung von subependymalen Infiltrationszonen, eloquenten Arealen etc.) zu den Strahlentherapeuten die Behandlungskonzepte bereichern (105-107).

Vor dem Hintergrund der sehr ernsten Prognose der Glioblastompatienten müssen individualisierte Therapiekonzepte und neue Technologien hohen Anforderungen *in puncto* Nutzen-/Risikoprofil, Praktikabilität und Integrität in das tägliche Leben entsprechen. Mit der Einführung von *TTFields* in der Glioblastombehandlung entstand eine große Kontroverse in Hinblick auf die alltagsbestimmende Therapie mit einer erforderlichen Therapiedauer von 18 Stunden täglich einerseits und dem verlängerten Überleben durch die Behandlung andererseits (51-53). Wir haben mit den vorgelegten Arbeiten wertvolle Daten zur Therapie*compliance* und generellen Akzeptanz von *TTFields* sowie spezifischen Einschränkungen des täglichen Lebens erhoben (79, 80). Unsere Daten zeigen, dass nur ein Drittel der Patienten mit Erstdiagnose eines Glioblastoms *TTFields* angeboten bekam (79). Die Akzeptanzrate von *TTFields* von Seiten der Patienten lag ebenfalls bei nur 35%, was mit der aufwändigen Prozedur des Tragens, dem veränderten äußeren Erscheinungsbild und nur begrenztem Zugewinn an Lebenszeit begründet wurde. Im Hinblick auf die Therapie*compliance* haben wir festgestellt, dass unabhängig vom Alter oder Schweregrad der Erkrankung die *Compliance* durchgängig

sehr gut war und überwiegend dem geforderten Maß an 18 Stunden Therapie pro Tag entsprach (79). Faktoren wie hohes Patientenalter oder fortgeschrittenes Krankheitsstadium müssen daher nicht notwendigerweise eine Kontraindikation für eine *TTFields*-Behandlung darstellen. Bisher liegen keine vergleichbaren Studien zu diesem Thema vor. Im Rahmen einer prospektiven Observationsstudie „*TTFields In Germany in Routine Clinical Care (TIGER)*“ (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03258021*) werden aktuell Daten zur Akzeptanz und *Compliance* von *TTFields* untersucht.

Die Auswirkungen von *TTFields* auf die Lebensqualität der Patienten wurden anhand der EF-14 Patientenkohorte erhoben. Den Autoren zufolge bestand kein klinisch relevanter Unterschied der Lebensqualität von Patienten mit *TTFields* im Vergleich zur Kontrollgruppe (53). Kritikpunkte an der Studie sind das schlechte *follow up* der Studie und die positive Beeinflussung der Lebensqualität und Symptomkontrolle der *TTFields*-Patienten durch die nachweislich erhöhte medizinische und soziale Zuwendung (53, 54, 108). Mithilfe eines neu entwickelten, *TTFields*-spezifischen Fragebogen haben wir erstmals therapiespezifische Auswirkungen auf den Alltag von Patienten erfasst. Wir konnten zeigen, dass das *Handling* des Gerätes sowie Wechselzeit und Anbringen der *Transducer-Arrays* den größten Einfluss auf die Lebensführung der Patienten hatten (80). Des Weiteren berichteten zwei Drittel der Patienten von signifikanten Einschränkungen durch *TTFields* auf das tägliche Leben (80). Trotz der Einschränkungen zeigten die Patienten auch in dieser Studie eine sehr gute *Therapiecompliance*. Wir folgern, dass eine schrittweise, offene und ausführliche Aufklärung über die zu erwartenden Einschränkungen und Nebenwirkungen neuartiger Therapie wie *TTFields* wichtig ist, um eine gute *Compliance* zu erzielen. Die Erhebung von Lebensqualitäts-einschränkenden Faktoren aus Patientensicht ist für die Implementierung und Weiterentwicklung neuer

Technologie wesentlich und sollte auch zukünftig zentraler Bestandteil der Forschung sein (83, 109).

4. Zusammenfassung

Mit der vorgelegten Arbeit werden experimentelle, translationale und klinische Forschungsergebnisse der individualisierten Glioblastombehandlung dargestellt. Mit der Arbeit zur RTK AXL konnten wir nachweisen, dass eine hohe Expression von P-AXL im humanen Glioblastom vorliegt und die medikamentöse Hemmung des Rezeptors sehr vielversprechenden Ergebnisse im präklinischen *Setting* erzielt. Die Erkenntnisse zur Rolle der RTK AXL im Glioblastom haben nun zu einer ersten klinischen Phase 1-Studie mit einem AXL Inhibitor geführt, deren Ergebnisse in den nächsten drei Jahren erwartet werden.

In dem Kontext der klinischen Weiterentwicklung grundlagenwissenschaftlicher Projekte haben wir uns mit der Definition geeigneter Einschlusskriterien für ein klinisches Studiendesign befasst. Wir konnten im Hinblick auf den MGMT-Promotor-Status zeigen, dass der prädiktive Schwellenwert für die MGMT-Promotor-Methylierung anhand der PSQ über dem bisher angewandten, biologischen Schwellenwert liegt. Die Ergebnisse dieser Studie sind sowohl für das *Design* zukünftiger Studien wichtig als auch für den klinischen Alltag, wenn Therapieentscheidungen in Abhängigkeit des MGMT-Promotor-Status getroffen werden.

In dem klinischen Teil der Arbeit haben wir uns mit der Effektivität und Sicherheit einer dosisintensivierten Bestrahlung beim Glioblastom befasst. Die Daten zeigen, dass individualisierte Therapieregime auch in der Bestrahlung von Glioblastomen sinnvoll sein können. Prospektive Studien in der Strahlentherapie sind notwendig, um die nötige Evidenz dieser Therapiekonzepte zu liefern. In Hinblick auf die Einführung innovativer

Therapiekonzepte haben wir mit zwei klinischen Arbeiten Daten zur Akzeptanz, *Compliance* und Alltagsintegrität von TTFields in der Routineversorgung erhoben. Die Arbeiten machen deutlich, dass eine detaillierte Patienteninformation und ein intaktes soziales Umfeld mit einer guten *Therapiecompliance* einhergehen und dazu beitragen die Lebensqualität der Patienten zu erhalten trotz signifikanter Einschränkungen im Alltag.

5. Literaturangaben

1. Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, Barnholtz-Sloan JS, Davis FG, Il'yasova D, et al. Brain Tumor Epidemiology: Consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium (BTEC). *Cancer*. 2008;113(7 Suppl):1953-68.
2. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The Lancet Oncology*. 2009;10(5):459-66.
3. Stupp R, Taillibert S, Kanner AA, Kesari S, Steinberg DM, Toms SA, et al. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2015;314(23):2535-43.
4. Parker NR, Hudson AL, Khong P, Parkinson JF, Dwight T, Ikin RJ, et al. Intratumoral heterogeneity identified at the epigenetic, genetic and transcriptional level in glioblastoma. *Sci Rep*. 2016;6:22477.
5. Pardridge WM. Drug transport across the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(11):1959-72.
6. Knobbe CB, Reifenberger J, Reifenberger G. Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas. *Acta neuropathologica*. 2004;108(6):467-70.
7. Weller M, Butowski N, Tran DD, Recht LD, Lim M, Hirte H, et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2017;18(10):1373-85.
8. Gilbert MR, Wang M, Aldape KD, Stupp R, Hegi ME, Jaeckle KA, et al. Dose-Dense Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma: A Randomized Phase III Clinical Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(32):4085-91.
9. Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2012;13(7):707-15.
10. Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR, Gokaslan ZL, Shi W, DeMonte F, et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. *Journal of neurosurgery*. 2001;95(2):190-8.
11. Laws ER, Shaffrey ME, Morris A, Anderson FA, Jr. Surgical management of intracranial gliomas--does radical resection improve outcome? *Acta neurochirurgica Supplement*. 2003;85:47-53.

12. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *The Lancet Oncology*. 2006;7(5):392-401.
13. Picht T, Kombos T, Gramm HJ, Brock M, Suess O. Multimodal protocol for awake craniotomy in language cortex tumour surgery. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006;148(2):127-37; discussion 37-8.
14. Kombos T, Picht T, Derdilopoulos A, Suess O. Impact of intraoperative neurophysiological monitoring on surgery of high-grade gliomas. *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society*. 2009;26(6):422-5.
15. Picht T, Frey D, Thieme S, Kliesch S, Vajkoczy P. Presurgical navigated TMS motor cortex mapping improves outcome in glioblastoma surgery: a controlled observational study. *J Neurooncol*. 2016;126(3):535-43.
16. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta neuropathologica*. 2016;131(6):803-20.
17. Cohen AL, Holmen SL, Colman H. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *Current neurology and neuroscience reports*. 2013;13(5):345.
18. Yang P, Zhang W, Wang Y, Peng X, Chen B, Qiu X, et al. IDH mutation and MGMT promoter methylation in glioblastoma: results of a prospective registry. *Oncotarget*. 2015;6(38):40896-906.
19. Preusser M, Charles Janzer R, Felsberg J, Reifenberger G, Hamou MF, Diserens AC, et al. Anti-O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2008;18(4):520-32.
20. Dunn J, Baborie A, Alam F, Joyce K, Moxham M, Sibson R, et al. Extent of MGMT promoter methylation correlates with outcome in glioblastomas given temozolomide and radiotherapy. *Br J Cancer*. 2009;101(1):124-31.
21. Christians A, Hartmann C, Benner A, Meyer J, von Deimling A, Weller M, et al. Prognostic Value of Three Different Methods of MGMT Promoter Methylation Analysis in a Prospective Trial on Newly Diagnosed Glioblastoma. *PloS one*. 2012;7(3).
22. Reifenberger G, Hentschel B, Felsberg J, Schackert G, Simon M, Schnell O, et al. Predictive impact of MGMT promoter methylation in glioblastoma of the elderly. *Int J Cancer*. 2012;131(6):1342-50.
23. Hegi ME, Diserens AC, Godard S, Dietrich PY, Regli L, Ostermann S, et al. Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clinical*

cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2004;10(6):1871-4.

24. Havik AB, Brandal P, Honne H, Dahlback HS, Scheie D, Hektoen M, et al. MGMT promoter methylation in gliomas-assessment by pyrosequencing and quantitative methylation-specific PCR. *Journal of translational medicine*. 2012;10:36.
25. Bienkowski M, Berghoff AS, Marosi C, Wohrer A, Heinzl H, Hainfellner JA, et al. Clinical Neuropathology practice guide 5-2015: MGMT methylation pyrosequencing in glioblastoma: unresolved issues and open questions. *Clin Neuropathol*. 2015;34(5):250-7.
26. Deborah S. Malley DMP, Rifat A. Hamoudi, Vincent Peter Collins, Sylvia Kocialkowski, Koichi Ichimura. A distinct region of the MGMT CpG island critical for transcriptional regulation is preferentially methylated in glioblastoma cells and xenografts. *Acta neuropathologica*. 2011;121:11.
27. Mikeska T, Bock C, El-Maarri O, Hubner A, Ehrentraut D, Schramm J, et al. Optimization of quantitative MGMT promoter methylation analysis using pyrosequencing and combined bisulfite restriction analysis. *The Journal of molecular diagnostics : JMD*. 2007;9(3):368-81.
28. Brigladori G, Foca F, Dall'Agata M, Rengucci C, Melegari E, Cerasoli S, et al. Defining the cutoff value of MGMT gene promoter methylation and its predictive capacity in glioblastoma. *J Neurooncol*. 2016;128(2):333-9.
29. Mur P, Rodriguez de Lope A, Diaz-Crespo FJ, Hernandez-Iglesias T, Ribalta T, Fiano C, et al. Impact on prognosis of the regional distribution of MGMT methylation with respect to the CpG island methylator phenotype and age in glioma patients. *J Neurooncol*. 2015;122(3):441-50.
30. Quillien V, Lavenu A, Ducray F, Joly MO, Chinot O, Fina F, et al. Validation of the high-performance of pyrosequencing for clinical MGMT testing on a cohort of glioblastoma patients from a prospective dedicated multicentric trial. *Oncotarget*. 2016;7(38):61916-29.
31. Switzeny OJ, Christmann M, Renovanz M, Giese A, Sommer C, Kaina B. MGMT promoter methylation determined by HRM in comparison to MSP and pyrosequencing for predicting high-grade glioma response. *Clinical epigenetics*. 2016;8:49.
32. Trabelsi S, Mama N, Ladib M, Karmeni N, Haddaji Mastouri M, Chourabi M, et al. MGMT methylation assessment in glioblastoma: MS-MLPA versus human methylation 450K beadchip array and immunohistochemistry. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*. 2016;18(4):391-7.
33. Villani V, Casini B, Pace A, Prosperini L, Carapella CM, Vidiri A, et al. The Prognostic Value of Pyrosequencing-Detected MGMT Promoter Hypermethylation in Newly Diagnosed Patients with Glioblastoma. *Disease Markers*. 2015;2015:604719.

34. Zhao H, Wang S, Song C, Zha Y, Li L. The prognostic value of MGMT promoter status by pyrosequencing assay for glioblastoma patients' survival: a meta-analysis. *World journal of surgical oncology*. 2016;14(1):261.
35. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2005;352(10):987-96.
36. Tensaouti F, Khalifa J, Lusque A, Plas B, Lotterie JA, Berry I, et al. Response Assessment in Neuro-Oncology criteria, contrast enhancement and perfusion MRI for assessing progression in glioblastoma. *Neuroradiology*. 2017;59(10):1013-20.
37. Fine HA, Dear KB, Loeffler JS, Black PM, Canellos GP. Meta-analysis of radiation therapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults. *Cancer*. 1993;71(8):2585-97.
38. Stewart LA. Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *Lancet (London, England)*. 2002;359(9311):1011-8.
39. Wick W, Dettmer S, Berberich A, Kessler T, Karapanagiotou-Schenkel I, Wick A, et al. N2M2 (NOA-20) phase I/II trial of molecularly matched targeted therapies plus radiotherapy in patients with newly diagnosed non-MGMT hypermethylated glioblastoma. *Neuro-oncology*. 2019;21(1):95-105.
40. Herrlinger U, Tzaridis T, Mack F, Steinbach JP, Schlegel U, Sabel M, et al. Lomustine-temozolomide combination therapy versus standard temozolomide therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CeTeG/NOA-09): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet (London, England)*. 2019;393(10172):678-88.
41. Hau P, Stupp R, Hegi ME. MGMT Methylation Status: The Advent of Stratified Therapy in Glioblastoma? *Disease Markers*. 2007;23(1-2):97-104.
42. Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, Stupp R, Frappaz D, Schultz H, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2012;13(9):916-26.
43. Perry JR, Laperriere N, O'Callaghan CJ, Brandes AA, Menten J, Phillips C, et al. Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2017;376(11):1027-37.
44. Wong ET, Lok E, Swanson KD. An Evidence-Based Review of Alternating Electric Fields Therapy for Malignant Gliomas. *Current Treatment Options in Oncology*. 2015;16(8).
45. Berkelmann L, Bader A, Meshksar S, Dierks A, Hatipoglu Majernik G, Krauss JK, et al. Tumour-treating fields (TTFields): Investigations on the mechanism of action by electromagnetic exposure of cells in telophase/cytokinesis. *Sci Rep*. 2019;9(1):7362.

46. Chang E, Patel CB, Pohling C, Young C, Song J, Flores TA, et al. Tumor treating fields increases membrane permeability in glioblastoma cells. *Cell Death Discovery*. 2018;4.
47. Neuhaus E, Zirjacks L, Ganser K, Klumpp L, Schüler U, Zips D, et al. Alternating Electric Fields (TTFields) Activate Cav1.2 Channels in Human Glioblastoma Cells. *Cancers (Basel)*. 2019;11(1).
48. Toms SA, Kim CY, Nicholas G, Ram Z. Increased compliance with tumor treating fields therapy is prognostic for improved survival in the treatment of glioblastoma: a subgroup analysis of the EF-14 phase III trial. *J Neurooncol*. 2019;141(2):467-73.
49. Stupp R, Wong ET, Kanner AA, Steinberg D, Engelhard H, Heidecke V, et al. NovoTTF-100A versus physician's choice chemotherapy in recurrent glioblastoma: a randomised phase III trial of a novel treatment modality. *Eur J Cancer*. 2012;48(14):2192-202.
50. Stupp R, Taillibert S, Kanner A, Read W, Steinberg DM, Lhermitte B, et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2017;318(23):2306-16.
51. Mehta M, Wen P, Nishikawa R, Reardon D, Peters K. Critical review of the addition of tumor treating fields (TTFields) to the existing standard of care for newly diagnosed glioblastoma patients. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2017;111:60-5.
52. Wick W. TTFields: where does all the skepticism come from? *Neuro-oncology*. 2016;18(3):303-5.
53. Zhu JJ, Demireva P, Kanner AA, Pannullo S, Mehdorn M, Avgeropoulos N, et al. Health-related quality of life, cognitive screening, and functional status in a randomized phase III trial (EF-14) of tumor treating fields with temozolomide compared to temozolomide alone in newly diagnosed glioblastoma. *J Neurooncol*. 2017;135(3):545-52.
54. Taphoorn MJB, Dirven L, Kanner AA, Lavy-Shahaf G, Weinberg U, Taillibert S, et al. Influence of Treatment With Tumor-Treating Fields on Health-Related Quality of Life of Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*. 2018;4(4):495-504.
55. Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget*. 2016;7(22):33440-50.
56. Rho JK, Choi YJ, Kim SY, Kim TW, Choi EK, Yoon SJ, et al. MET and AXL inhibitor NPS-1034 exerts efficacy against lung cancer cells resistant to EGFR kinase inhibitors because of MET or AXL activation. *Cancer Res*. 2014;74(1):253-62.
57. Ruan GX, Kazlauskas A. Axl is essential for VEGF-A-dependent activation of PI3K/Akt. *EMBO J*. 2012;31(7):1692-703.

58. Vouri M, Croucher DR, Kennedy SP, An Q, Pilkington GJ, Hafizi S. Axl-EGFR receptor tyrosine kinase hetero-interaction provides EGFR with access to pro-invasive signalling in cancer cells. *Oncogenesis*. 2016;5(10):e266-.
59. Zagorska A, Traves PG, Lew ED, Dransfield I, Lemke G. Diversification of TAM receptor tyrosine kinase function. *Nat Immunol*. 2014;15(10):920-8.
60. Miller MA, Sullivan RJ, Lauffenburger DA. Molecular Pathways: Receptor Ectodomain Shedding in Treatment, Resistance, and Monitoring of Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2017;23(3):623-9.
61. Chamberlain MC, Sanson M. Combined analysis of TERT, EGFR, and IDH status defines distinct prognostic glioblastoma classes. *Neurology*. 2015;84(19):2007.
62. Hashizume H, Falcon BL, Kuroda T, Baluk P, Coxon A, Yu D, et al. Complementary actions of inhibitors of angiopoietin-2 and VEGF on tumor angiogenesis and growth. *Cancer Res*. 2010;70(6):2213-23.
63. Westphal M, Maire CL, Lamszus K. EGFR as a Target for Glioblastoma Treatment: An Unfulfilled Promise. *CNS drugs*. 2017;31(9):723-35.
64. Gay CM, Balaji K, Byers LA. Giving AXL the axe: targeting AXL in human malignancy. *Br J Cancer*. 2017;116(4):415-23.
65. Fourgeaud L, Traves PG, Tufail Y, Leal-Bailey H, Lew ED, Burrola PG, et al. TAM receptors regulate multiple features of microglial physiology. *Nature*. 2016;532(7598):240-4.
66. Wu X, Liu X, Koul S, Lee CY, Zhang Z, Halmos B. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget*. 2014;5(20):9546-63.
67. Skinner HD, Giri U, Yang LP, Kumar M, Liu Y, Story MD, et al. Integrative Analysis Identifies a Novel AXL-PI3 Kinase-PD-L1 Signaling Axis Associated with Radiation Resistance in Head and Neck Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2017;23(11):2713-22.
68. Brand TM, Iida M, Stein AP, Corrigan KL, Braverman CM, Coan JP, et al. AXL Is a Logical Molecular Target in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2015;21(11):2601-12.
69. Zhang YX, Knyazev PG, Cheburkin YV, Sharma K, Knyazev YP, Orfi L, et al. AXL is a potential target for therapeutic intervention in breast cancer progression. *Cancer Res*. 2008;68(6):1905-15.
70. Hutterer M, Knyazev P, Abate A, Reschke M, Maier H, Stefanova N, et al. Axl and growth arrest-specific gene 6 are frequently overexpressed in human gliomas and predict poor prognosis in patients with glioblastoma multiforme. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(1):130-8.

71. Vajkoczy P, Knyazev P, Kunkel A, Capelle HH, Behrndt S, von Tengg-Kobligk H, et al. Dominant-negative inhibition of the Axl receptor tyrosine kinase suppresses brain tumor cell growth and invasion and prolongs survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(15):5799-804.
72. Onken J, Torika R, Korsing S, Radke J, Kredienteskaia I, Nieminen M, et al. Inhibiting receptor tyrosine kinase AXL with small molecule inhibitor BMS-777607 reduces glioblastoma growth, migration, and invasion in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2016;7(9):9876-89.
73. Weller M, Stupp R, Hegi ME, van den Bent M, Tonn JC, Sanson M, et al. Personalized care in neuro-oncology coming of age: why we need MGMT and 1p/19q testing for malignant glioma patients in clinical practice. *Neuro-oncology*. 2012;14(Suppl 4):iv100-8.
74. Radke J, Koch A, Pritsch F, Schumann E, Misch M, Hempt C, et al. Predictive MGMT status in a homogeneous cohort of IDH wildtype glioblastoma patients. *Acta Neuropathol Commun*. 2019;7(1):7.
75. Blumenthal DT, Gorlia T, Gilbert MR, Kim MM, Burt Nabors L, Mason WP, et al. Is more better? The impact of extended adjuvant temozolomide in newly diagnosed glioblastoma: a secondary analysis of EORTC and NRG Oncology/RTOG. *Neuro-oncology*. 2017;19(8):1119-26.
76. Chan MD, Tatter SB, Lesser G, Shaw EG. Radiation oncology in brain tumors: current approaches and clinical trials in progress. *Neuroimaging clinics of North America*. 2010;20(3):401-8.
77. Brandes AA, Tosoni A, Franceschi E, Sotti G, Frezza G, Amista P, et al. Recurrence pattern after temozolomide concomitant with and adjuvant to radiotherapy in newly diagnosed patients with glioblastoma: correlation With MGMT promoter methylation status. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(8):1275-9.
78. Zschaecck S, Wust P, Graf R, Misch M, Onken J, Ghadjjar P, et al. Locally dose-escalated radiotherapy may improve intracranial local control and overall survival among patients with glioblastoma. *Radiat Oncol*. 2018;13(1):251.
79. Onken J, Staub-Bartelt F, Vajkoczy P, Misch M. Acceptance and compliance of TTFields treatment among high grade glioma patients. *J Neurooncol*. 2018;139(1):177-84.
80. Onken J, Goerling U, Heinrich M, Pleissner S, Krex D, Vajkoczy P, et al. Patient Reported Outcome (PRO) among High-Grade Glioma Patients Receiving TTFields Treatment: a Two Center Observational Study. *Front Neurol* 2019;10.
81. Maringwa J, Quinten C, King M, Ringash J, Osoba D, Coens C, et al. Minimal clinically meaningful differences for the EORTC QLQ-C30 and EORTC QLQ-BN20 scales in brain cancer patients. *Ann Oncol*. 2011;22(9):2107-12.

82. Mauer M, Stupp R, Taphoorn MJB, Coens C, Osoba D, Marosi C, et al. The prognostic value of health-related quality-of-life data in predicting survival in glioblastoma cancer patients: results from an international randomised phase III EORTC Brain Tumour and Radiation Oncology Groups, and NCIC Clinical Trials Group study. *Br J Cancer*. 2007;97(3):302-7.
83. Taphoorn MJ, Claassens L, Aaronson NK, Coens C, Mauer M, Osoba D, et al. An international validation study of the EORTC brain cancer module (EORTC QLQ-BN20) for assessing health-related quality of life and symptoms in brain cancer patients. *Eur J Cancer*. 2010;46(6):1033-40.
84. Weis J, Arraras JI, Conroy T, Efficace F, Fleissner C, Gorog A, et al. Development of an EORTC quality of life phase III module measuring cancer-related fatigue (EORTC QLQ-FA13). *Psychooncology*. 2013;22(5):1002-7.
85. Weis J, Tomaszewski KA, Hammerlid E, Ignacio Arraras J, Conroy T, Lanceley A, et al. International Psychometric Validation of an EORTC Quality of Life Module Measuring Cancer Related Fatigue (EORTC QLQ-FA12). *J Natl Cancer Inst*. 2017;109(5).
86. Kariolis MS, Miao YR, Diep A, Nash SE, Olcina MM, Jiang D, et al. Inhibition of the GAS6/AXL pathway augments the efficacy of chemotherapies. *J Clin Invest*. 2017;127(1):183-98.
87. Lauter M, Weber A, Torka R. Targeting of the AXL receptor tyrosine kinase by small molecule inhibitor leads to AXL cell surface accumulation by impairing the ubiquitin-dependent receptor degradation. *Cell Communication and Signaling : CCS*. 2019;17.
88. Onken J, Vajkoczy P, Torka R, Hempt C, Patsouris V, Heppner FL, et al. Phospho-AXL is widely expressed in glioblastoma and associated with significant shorter overall survival. *Oncotarget*. 2017;8(31):50403-14.
89. Keating AK, Kim GK, Jones AE, Donson AM, Ware K, Mulcahy JM, et al. Inhibition of Mer and Axl receptor tyrosine kinases in astrocytoma cells leads to increased apoptosis and improved chemosensitivity. *Mol Cancer Ther*. 2010;9(5):1298-307.
90. Linger RM, Cohen RA, Cummings CT, Sather S, Migdall-Wilson J, Middleton DH, et al. Mer or Axl receptor tyrosine kinase inhibition promotes apoptosis, blocks growth and enhances chemosensitivity of human non-small cell lung cancer. *Oncogene*. 2013;32(29):3420-31.
91. Rankin EB, Giaccia AJ. *The Receptor Tyrosine Kinase AXL in Cancer Progression*. *Cancers (Basel)*. 2016;8(11).
92. Chinot OL, Wick W, Mason W, Henriksson R, Saran F, Nishikawa R, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2014;370(8):709-22.
93. Hutterer M, Nowosielski M, Haybaeck J, Embacher S, Stockhammer F, Gotwald T, et al. A single-arm phase II Austrian/German multicenter trial on continuous daily

sunitinib in primary glioblastoma at first recurrence (SURGE 01-07). *Neuro-oncology*. 2014;16(1):92-102.

94. Wetmore C, Daryani VM, Billups CA, Boyett JM, Leary S, Tanos R, et al. Phase II evaluation of sunitinib in the treatment of recurrent or refractory high-grade glioma or ependymoma in children: a children's Oncology Group Study ACNS1021. *Cancer medicine*. 2016;5(7):1416-24.

95. Kleczko EK, Heasley LE. Mechanisms of rapid cancer cell reprogramming initiated by targeted receptor tyrosine kinase inhibitors and inherent therapeutic vulnerabilities. *Molecular cancer*. 2018;17(1):60.

96. Aguilera TA, Rafat M, Castellini L, Shehade H, Kariolis MS, Hui AB, et al. Reprogramming the immunological microenvironment through radiation and targeting Axl. *Nature communications*. 2016;7:13898.

97. Mansouri A, Hachem LD, Mansouri S, Nassiri F, Laperriere NJ, Xia D, et al. MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: refining the approach based on emerging evidence and current challenges. *Neuro-oncology*. 2019;21(2):167-78.

98. Xie H, Tubbs R, Yang B. Detection of MGMT promoter methylation in glioblastoma using pyrosequencing. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(2):1790-6.

99. Hegi ME, Genbrugge E, Gorlia T, Stupp R, Gilbert MR, Chinot OL, et al. MGMT Promoter Methylation Cutoff with Safety Margin for Selecting Glioblastoma Patients into Trials Omitting Temozolomide: A Pooled Analysis of Four Clinical Trials. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2019;25(6):1809-16.

100. Kim MM, Speers C, Li P, Schipper M, Junck L, Leung D, et al. Dose-intensified chemoradiation is associated with altered patterns of failure and favorable survival in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Neurooncol*. 2019;143(2):313-9.

101. Kebir S, Fimmers R, Galldiks N, Schafer N, Mack F, Schaub C, et al. Late Pseudoprogression in Glioblastoma: Diagnostic Value of Dynamic O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-Tyrosine PET. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2016;22(9):2190-6.

102. Galldiks N, Dunkl V, Stoffels G, Hutterer M, Rapp M, Sabel M, et al. Diagnosis of pseudoprogression in patients with glioblastoma using O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2015;42(5):685-95.

103. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, et al. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(11):1963-72.

104. Brandes AA, Tosoni A, Spagnoli F, Frezza G, Leonardi M, Calbucci F, et al. Disease progression or pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy treatment: pitfalls in neurooncology. *Neuro-oncology*. 2008;10(3):361-7.
105. Soike MH, McTyre ER, Shah N, Puchalski RB, Holmes JA, Paulsson AK, et al. Glioblastoma radiomics: can genomic and molecular characteristics correlate with imaging response patterns? *Neuroradiology*. 2018;60(10):1043-51.
106. Kickingeder P, Bonekamp D, Nowosielski M, Kratz A, Sill M, Burth S, et al. Radiogenomics of Glioblastoma: Machine Learning-based Classification of Molecular Characteristics by Using Multiparametric and Multiregional MR Imaging Features. *Radiology*. 2016;281(3):907-18.
107. Tejada Neyra MA, Neuberger U, Reinhardt A, Brugnara G, Bonekamp D, Sill M, et al. Voxel-wise radiogenomic mapping of tumor location with key molecular alterations in patients with glioma. *Neuro-oncology*. 2018;20(11):1517-24.
108. Guzauskas GF, Pollom EL, Stieber VW, Wang BCM, Garrison LP, Jr. Tumor treating fields and maintenance temozolomide for newly-diagnosed glioblastoma: a cost-effectiveness study. *Journal of medical economics*. 2019;22(10):1006-13.
109. Temel JS, Greer JA, Muzikansky A, Gallagher ER, Admane S, Jackson VA, et al. Early palliative care for patients with metastatic non-small-cell lung cancer. *The New England journal of medicine*. 2010;363(8):733-42.

Danksagung

Meinem Chef, Prof. Peter Vajkoczy möchte ich für Sein Vertrauen in meine Person danken sowie für seine inhaltliche und mentale Förderung meiner klinischen und wissenschaftlichen Entwicklung.

Ich möchte mich bedanken bei der Förderung der BSIO durch Prof. Clemens Schmitt sowie bei der Berliner Krebsgesellschaft für die Anschubfinanzierung meiner experimentellen Projekte.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen hervorragenden Doktoranden Dr. Sören Korsing, Lea Scherschinski und Markus Prem bedanken sowie bei unseren MTAs Irina Kremenetskaia und Melina Nieminen-Kelhä. Durch Ihren Einsatz und Fleiß wurden unsere gemeinsamen Projekte stets vorangetrieben.

Besonderer Dank gilt meinen Kolleginnen und Kollegen Dr. Josefine Radke, Dr. Martin Misch und Dr. Robert Torka. Mit Ihnen hatte und habe ich zuverlässige, kompetente und engagierte Partner an meiner Seite, die unsere gemeinsamen wissenschaftlichen Projekte sehr bereichert haben.

Ich möchte meinem Mann, meiner Familie, meiner Schwiegerfamilie und meinen lieben Freunden für die bedingungslose Unterstützung, ihr aufrichtiges Interesse und Motivation an anstrengenden Tagen danken.

Mein größter und aufrichtigster Dank gilt meinen Patienten, von denen ich so unendlich viel gelernt habe.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Datum Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

