

Aus der Klinik für Koloproktologie am Krankenhaus Waldfriede –
Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Monozentrische Studie zum Verlauf des Analkarzinoms –
Welche Marker sind prognostisch relevant?
Monocentric study on the course of anal cancer – which
markers are prognostically relevant?**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anastasia Tsintari

aus Berlin

Datum der Promotion: 29.11.2024

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Tabellenverzeichnis | 4 |
| 2 | Abbildungsverzeichnis | 4 |
| 3 | Abkürzungsverzeichnis | 6 |
| 4 | Abstract | 8 |
| 5 | Einleitung | 11 |
| 5.1 | Analkarzinom | 11 |
| 5.1.1 | Epidemiologie | 11 |
| 5.1.2 | Risikofaktoren und Pathogenese | 11 |
| 5.1.2.1 | Humanes Papillomvirus | 12 |
| 5.1.3 | Klassifikation | 12 |
| 5.1.3.1 | Histopathologische Klassifikation | 12 |
| 5.1.3.2 | Klassifikation nach Lokalisation | 13 |
| 5.1.4 | Metastasierung | 13 |
| 5.1.5 | Diagnostik und Staging | 13 |
| 5.1.6 | Therapie | 15 |
| 5.1.6.1 | Primärtherapie beim nicht-metastasierten Analkarzinom | 15 |
| 5.1.6.2 | Therapie des residualen oder rezidivierenden Analkarzinoms | 17 |
| 5.1.6.3 | Durchführung der Chemotherapie mit 5-FU/MMC und der RT | 17 |
| 5.1.6.4 | Primärtherapie beim metastasierten Analkarzinom | 17 |
| 5.1.7 | Response-Beurteilung und Nachsorge | 18 |
| 5.1.8 | Prävention | 18 |
| 5.2 | Ziel und Fragestellung | 19 |
| 6 | Methoden | 21 |
| 6.1 | Studienprotokoll | 21 |
| 6.2 | Datenerhebung | 21 |
| 6.3 | HPV-Testung | 23 |
| 6.4 | Statistische Auswertung | 24 |
| 7 | Ergebnisse | 25 |
| 7.1 | Häufigkeiten | 25 |
| 7.2 | Patientenkollektiv | 25 |
| 7.2.1 | Therapie | 27 |
| 7.2.2 | Nebenwirkungen der Radiochemotherapie | 30 |
| 7.2.3 | Komplikationen durch Operation oder Resektion | 31 |
| 7.2.4 | HPV-Status | 32 |
| 7.3 | Gesamtüberleben | 34 |
| 7.4 | Progressionsfreies Überleben | 35 |
| 7.5 | Überlebenszeitanalysen nach Geschlecht | 35 |
| 7.6 | Überlebenszeitanalysen nach Tumorlokalisation | 37 |
| 7.7 | Überlebenszeitanalyse nach Tumorausdehnung | 39 |
| 7.8 | Überlebenszeitanalysen nach Alter | 40 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 7.9 | Überlebenszeitanalysen nach T-Stadium | 42 |
| 7.10 | Überlebenszeitanalysen nach N-Status..... | 43 |
| 7.11 | Überlebenszeitanalysen nach M-Stadium | 45 |
| 7.12 | Überlebenszeitanalysen nach UICC-Stadium | 46 |
| 7.13 | Überlebenszeitanalysen nach G-Stadium | 48 |
| 7.14 | Subgruppenanalyse Tumorstadium und Lymphknotenstatus..... | 49 |
| 7.15 | Überlebenszeitanalysen nach Therapie | 51 |
| 7.15.1 | Radiochemotherapie..... | 51 |
| 7.15.2 | Überlebenszeitanalyse nach Kolostoma-Anlage | 52 |
| 7.16 | Überlebenszeitanalysen nach HIV-Status | 52 |
| 7.17 | Überlebenszeitanalysen nach HPV-Status..... | 53 |
| 7.18 | Multivariablenanalyse | 57 |
| 8 | Diskussion | 58 |
| 8.1 | Patientenkollektiv und Studiendesign | 61 |
| 8.2 | Therapie und Nebenwirkungen..... | 61 |
| 8.3 | HPV-Infektion..... | 62 |
| 8.4 | Überleben | 63 |
| 8.5 | Überleben des Gesamtkollektivs | 63 |
| 8.6 | Überleben nach Alter und Geschlecht | 63 |
| 8.6.1 | Überleben nach HIV-Status | 64 |
| 8.6.2 | Überleben nach Tumorcharakteristika | 64 |
| 8.6.3 | Überleben nach Therapie | 65 |
| 8.6.4 | Überleben nach HPV-Status..... | 66 |
| 8.7 | Limitationen der Studie | 66 |
| 8.8 | Zusammenfassung und Ausblick..... | 67 |
| 9 | Literaturverzeichnis | 70 |
| 10 | Lebenslauf | 77 |
| 11 | Eidesstattliche Versicherung..... | 78 |
| 12 | Danksagung | 79 |
| 13 | Bescheinigung des akkreditierten Statistikers | 80 |

1 Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Tumorstadieneinteilung des Analkarzinoms nach UICC..... | 15 |
| Tabelle 2: Nachsorge..... | 22 |
| Tabelle 3: Durch Massenspektrometrie nachweisbare HPV-Subtypen und deren Risikoklassifikation nach IARC..... | 23 |
| Tabelle 4: Baseline-Charakteristika des Patientenkollektivs..... | 26 |
| Tabelle 5: Primärtherapie..... | 28 |
| Tabelle 6: Tumorrezidiv/-persistenz nach kurativer Primärtherapie..... | 29 |
| Tabelle 7: Zweit- und Drittlinientherapie..... | 29 |
| Tabelle 8: Nebenwirkungen der Radiotherapie..... | 30 |
| Tabelle 9: Nebenwirkungen der Chemotherapie..... | 31 |
| Tabelle 10: Komplikationen durch Operation/Resektion..... | 32 |
| Tabelle 11: HPV-Status..... | 33 |
| Tabelle 12: HPV-Subtypen - Klassifikation nach IARC..... | 33 |
| Tabelle 13: Rezidivrate und Zeitspanne bis zum Eintritt..... | 35 |
| Tabelle 14: Multivariablenanalyse zum Gesamtüberleben mit Cox-Regression..... | 58 |
| Tabelle 15: Multivariablenanalyse zum Progressionsfreien Überleben mit Cox-Regression..... | 58 |
| Tabelle 16: Studien zu prognostischen Faktoren beim Analkarzinom nach Radiochemotherapie..... | 60 |

2 Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier..... | 34 |
| Abbildung 2: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom Geschlecht nach Kaplan-Meier..... | 36 |
| Abbildung 3: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom Geschlecht nach Kaplan-Meier..... | 37 |
| Abbildung 4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation nach Kaplan-Meier..... | 38 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 5: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation nach Kaplan-Meier..... | 38 |
| Abbildung 6: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung..... | 39 |
| Abbildung 7: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung..... | 40 |
| Abbildung 8: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom Alter nach Kaplan-Meier..... | 41 |
| Abbildung 9: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom Alter nach Kaplan-Meier..... | 41 |
| Abbildung 10: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom T-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 42 |
| Abbildung 11: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom T-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 43 |
| Abbildung 12: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom N-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 44 |
| Abbildung 13: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom N-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 44 |
| Abbildung 14: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom M-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 45 |
| Abbildung 15: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom M-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 46 |
| Abbildung 16: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 47 |
| Abbildung 17: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 47 |
| Abbildung 18: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom G-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 48 |
| Abbildung 19: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom G-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 49 |
| Abbildung 20: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom TN-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 50 |
| Abbildung 21: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom TN-Stadium nach Kaplan-Meier..... | 50 |
| Abbildung 22: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie nach Kaplan-Meier..... | 51 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 23: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie nach Kaplan-Meier..... | 52 |
| Abbildung 24: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom HPV-Status nach Kaplan-Meier..... | 53 |
| Abbildung 25: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom HPV-Status nach Kaplan-Meier..... | 54 |
| Abbildung 26: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom HR-HPV-Status nach Kaplan-Meier..... | 55 |
| Abbildung 27: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der HPV-Anzahl nach Kaplan-Meier..... | 56 |
| Abbildung 28: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der HPV-Anzahl nach Kaplan Meier..... | 57 |

3 Abkürzungsverzeichnis

AIN =Anale intraepitheliale Neoplasie

HPV = Humanes Papillomvirus

HIV = Humanes Immundefizienzvirus

HR-HPV = Hochrisiko humanes Papillomvirus

LR-HPV = Niedrigrisiko humanes Papillomvirus

LSIN = Low-grade squamous intraepithelial lesion

HSIL = high-grade squamous intraepithelial lesion

ASCUS = Atypical squamous cells of undetermined significance

DRE = Digital rectal examination (digitorektale Untersuchung)

EAUS = Endoanaler Ultraschall

MRT = Magnet-Resonanz-Tomographie

CT = Computertomographie

PET-CT = Positronen-Emissions-Tomographie

UICC = Union for international cancer control

AJCC = American Joint Committee on Cancer

APR = Abdominoperineale Rektumexstirpation

5JÜ = 5-Jahres-Überleben

Cht = Chemotherapie

5-FU = 5-Fluoruracil

MMC = Mitomycin-C

RT = Radiotherapie

RCht = Radiochemotherapie

FOLFOX = Folinsäure/5-Fluoruracil/Oxaliplatin

STIKO = Ständige Impfkommission

LRF = Locoregional failure (lokoregionäres Versagen)

ACD = Anal cancer death (Tod durch Analkarzinom)

DFS = Disease-free survival (Tumorfrees Überleben)

CFS = Colostomyfree survival (Kolostomiefrees Überleben)

OS = Overall survival (Gesamtüberleben)

MALDI-TOF = Matrix-assisted-Laser-Desorption-Ionization-Time of Flight

(Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung-Flugzeitanalyse)

FFPE = Formalin-Fixed-Paraffin-Embedded (Formalin-fixiert-paraffin-eingebettet)

PCR = Polymerase-Kettenreaktion

GAPDH = Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase

IARC = International agency for research on cancer

PFS = Progression-free survival (Progressionsfrees Überleben)

95%-KI = 95%-Konfidenzintervall

IMRT = Intensitätsmodulierte Radiotherapie

SEER = Surveillance, Epidemiology, End Results

4 Abstract

Abstract deutsch

Einleitung: Das Analkarzinom ist eine seltene Tumorentität mit steigender Inzidenz. Dies gibt Anreiz zur Identifikation der prognostisch relevanten Faktoren in Bezug auf das Gesamt- sowie progressionsfreies Überleben. Insbesondere die Relevanz von HPV und seiner Subtypen ist interessant, da sie in der Entstehung analer Dysplasien eine wesentliche Rolle spielen.

Methoden: Es erfolgte eine retrospektive Datenanalyse von n=125 Patienten, die zwischen 2008 und April 2019 mit der Diagnose eines Analkarzinoms in der Koloproktologie am Krankenhaus Waldfriede vorstellig wurden. Primäre Endpunkte waren das 5-Jahres-Überleben (Gesamtüberleben) sowie das progressionsfreie Überleben. Es wurde die prognostische Relevanz diverser Faktoren auf diese Endpunkte analysiert (u.a. Geschlecht, initiales Tumorstadium, Lymphknotenstatus, Vorliegen von Fernmetastasen, Tumorlokalisation- und -durchmesser, Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie sowie Infektion mit HIV oder HPV). Ein Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der einzelnen HPV-Subtypen und deren Einfluss auf den Krankheitsverlauf.

Ergebnisse: Das Gesamtüberleben (OS) in dieser Studie lag bei 84,9% und das progressionsfreie Überleben (PFS) bei 70%. Ein signifikant schlechteres mittleres OS in der univariaten Analyse lag vor bei Tumorstadium T3/4 (47,8 vs. T1/2 57,2 Monate, $p=0,031$), bei Lymphknotenbefall (N+ 47,9 vs. N0 57,5 Monate, $p=0,008$), bei Fernmetastasen (M1 9,3 vs. M0 56 Monate, $p<0,001$) und bei UICC-Stadium III/IV (46,9 vs. UICC I/II 58,6, $p=0,002$). Auch das PFS war reduziert bei N+-Status (30,2 Monate vs. N0 54,2, $p=0,004$), M1-Status (9 vs. M0 50,3 Monate, $p<0,001$) und UICC III/IV-Stadium (39,6 vs. UICC I/II 55,2 Monate, $p=0,002$). In der Multivariablenanalyse blieb M1-Status weiterhin mit signifikant schlechterem OS (Hazard Ratio 0,03; $p<0,001$; 95%-KI 0,005; 0,19) und PFS assoziiert (Hazard Ratio 0,15; $p=0,008$; 95%-KI 0,03; 0,61). Alter >65 Jahre zeigte multivariat ein signifikant schlechteres OS (Hazard Ratio 10,41; $p=0,013$; 95%-KI 1,64; 65,8) und N+-Status ein signifikant schlechteres PFS (Hazard Ratio 3,54; $p=0,042$; 95%-KI 1,04; 12,01).

Ein signifikanter Unterschied im Überleben bei Vorliegen einer HPV-Infektion zeigte sich in dieser Studie nicht. Bei einigen Patienten waren nur die HPV-Subtypen 39, 56 und 68 nachweisbar, welche bisher noch nicht im neunvalenten Impfstoff enthalten sind.

Schlussfolgerung: Ein fortgeschrittenes Tumorstadium, Lymphknotenbefall, Fernmetastasen sowie fortgeschrittenes Alter gehen in dieser Studie mit einer schlechteren Prognose des Analkarzinoms einher. Ein engmaschigeres Nachsorgeschema oder aggressivere Behandlungsoptionen bei diesen Patienten wären denkbar und müssen prospektiv evaluiert werden. Bezüglich der Relevanz einer bestehenden HPV-Infektion sowie des eigenständig karzinogenen Potenzials der bisher nicht im Impfstoff enthaltenen HPV-Subtypen sind noch weitere Studien notwendig, um hier Empfehlungen beispielsweise für eine HPV-Impfung abzuleiten.

Abstract englisch

Introduction: Anal cancer is a rare tumor entity with an increasing incidence. This gives an incentive to identify the prognostically relevant factors in relation to overall and progression-free survival. The relevance of HPV and its subtypes is particularly interesting, as they play a key role in the development of anal dysplasia.

Methods: A retrospective data analysis was carried out on n = 125 patients who presented to the coloproctology department at Waldfriede Hospital between 2008 and April 2019 with a diagnosis of anal cancer. The primary endpoints were 5-year survival (overall survival) and progression-free survival. The prognostic relevance of various factors on these endpoints was analyzed (including gender, initial tumor stage, lymph node status, presence of distant metastases, tumor location and diameter, implementation of combined chemoradiotherapy and infection with HIV or HPV). One focus is on the investigation of the individual HPV subtypes and their impact on the course of the disease.

Results: Overall survival (OS) in this study was 84.9% and progression-free survival (PFS) was 70%. A significantly worse mean OS in the univariate analysis was present with tumor stage T3/4 (47.8 vs. T1/2 57.2 months, p=0.031), lymph node involvement (N+ 47.9 vs. N0 57.5 months, p=0.008), distant metastases (M1 9.3 vs. M0 56 months, p<0.001) and UICC stage III/IV (46.9 vs. UICC I/II 58.6, p=0.002). PFS was also poorer with N+ status (30.2 months vs. N0 54.2, p=0.004), M1 status (9 vs. M0 50.3 months, p<0.001) and UICC stage III/IV (39.6 vs. UICC I/II 55.2 months, p=0.002). In multivariable analysis, M1 status remained associated with significantly poorer OS (hazard ratio 0.03; p<0.001; 95% CI 0.005; 0.19) and PFS (hazard ratio 0.15; p=0.008; 95% CI 0.03, 0.61). Age >65 years showed significantly poorer OS (hazard ratio 10.41;

p=0.013; 95% CI 1.64; 65.8) and N+ status showed significantly poorer PFS (hazard ratio 3.54; p= 0.042; 95% CI 1.04, 12.01).

There was no difference in survival in the presence of an HPV infection in this study. In some patients only the HPV subtypes 39, 56 and 68 were found, which are not yet included in the nine-valent vaccine.

Conclusion: An advanced tumor stage, lymph node involvement, distant metastases and advanced age are associated with a poor prognosis for anal cancer in this study. A closer follow-up scheme or more aggressive treatment options for these patients would be conceivable and must be evaluated prospectively. Regarding the relevance of an existing HPV infection and the independent carcinogenic potential of the HPV subtypes not previously included in the vaccine, further studies are necessary in order to derive recommendations for an HPV-vaccination.

5 Einleitung

5.1 Analkarzinom

5.1.1 Epidemiologie

Das Analkarzinom ist ein seltener Tumor mit einem prozentualen Anteil von 0,3% bei Männern und 0,6% bei Frauen aller Tumorentitäten in Deutschland und einem Anteil von etwa 2,7% aller gastrointestinaler Tumore [1] [2] [3]. Karzinome des Analrandes haben eine niedrigere Inzidenz als Analkanalkarzinome und treten bevorzugt bei Männern in der 5.-6. Lebensdekade auf. Im Gegensatz dazu ist das Analkanalkarzinom bei Frauen häufiger und hat einen Altersgipfel zwischen 60-70 Jahren [3]. Histologisch handelt es sich vorwiegend um Plattenepithelkarzinome, welche sich aus analen intraepithelialen Dys- und Neoplasien (AIN) hin zum Karzinom entwickeln und in über 90% der Fälle mit einer persistierenden Infektion mit humanen Papillomviren (HPV) assoziiert sind [1] [3] [4]. Das Neuerkrankungsrisiko ist zudem bei Patienten mit einer Immunsuppression durch Infektion mit dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV), insbesondere bei Männern mit gleichgeschlechtlichen Kontakten, deutlich erhöht [5]. Entgegen der sinkenden Erkrankungsrate beim kolorektalen Karzinom zeigt das Analkarzinom in den letzten 15 Jahren eine deutlich steigende Inzidenz sowie Sterberate. Man nimmt an, dass die erhöhte Inzidenz im Zusammenhang mit der Einführung der antiretroviralen Therapie bei HIV-Patienten und somit deren erhöhter Lebenserwartung steht [1] [3] [6] [7]. Das anale Plattenepithelkarzinom wird in dieser Studie synonym mit dem Begriff Analkarzinom verwendet.

5.1.2 Risikofaktoren und Pathogenese

Als wichtigster Risikofaktor für die Entstehung eines Analkarzinoms gilt eine Infektion mit HPV durch sexuelle Exposition, vor allem bei häufig wechselnden Sexualpartnern und repetitivem Analverkehr und bei HIV-assoziiert Immunsuppression [5] [8]. Bei HIV-positiven Männern und Frauen sind fast 100% der Analkarzinome HPV-positiv [7] [9] und das Risiko einer Karzinomentstehung aus den entsprechenden Vorstufen ist bei HIV-Positivität, insbesondere bei niedriger CD4-Zahl, deutlich erhöht [7] [10].

Weitere begünstigende Faktoren sind eine Immunsuppression durch Organtransplantation sowie entzündlich chronische Darmerkrankungen [3] [11] [12]. Auch Zigarettenrauchen konnte in verschiedenen Studien als unabhängiger Risikofaktor identifiziert werden, auch wenn der Pathomechanismus bisher noch nicht vollständig

geklärt ist [5] [8] [13] [14]. In der Studie von Phillips et al. [15] ergaben sich Hinweise auf eine direkte Interaktion von Komponenten des Tabakrauchs mit dem analen Epithel.

5.1.2.1 Humanes Papillomvirus

Es gibt über 100 Subtypen des HPV, wovon mindestens 40 Subtypen sexuell übertragen werden und die Anogenitalregion sowie auch andere Schleimhäute besiedeln können.

Es kann unterschieden werden zwischen onkogenen High-Risk HPV Subtypen (HR-HPV) und Low-Risk HPV Subtypen (LR-HPV), welche nicht regelhaft mit Malignität assoziiert sind. LR-HPV Subtypen wie beispielsweise HPV 6 und 11 spielen vorwiegend in der Entstehung benigner Genitalwarzen eine Rolle, können aber auch mit höhergradigen Dysplasien oder Analkarzinomen assoziiert sein [16]. Zu den onkogenen HR-HPV-Subtypen gehören unter anderem HPV 16 und 18, wobei HPV 16 der häufigste nachgewiesene HPV-Subtyp und für 80-93% der Analkarzinome verantwortlich ist [6] [13]. Zudem gibt es HPV-Subtypen, welche als wahrscheinlich und möglicherweise karzinogen gelten [4] [7]. HR-HPV exprimieren die viralen Onkogene E5, E6 und E7, welche mit Tumorsuppressorproteinen wie p53 und Retinoblastomprotein interagieren und ins Wirtsgenom integriert werden. Diese Wechselwirkung führt zu einer Überexpression des Proteins p16, sodass dieses als Surrogatmarker für ein HPV-induziertes Karzinom gilt [17]. Dabei wird eine gesteigerte Zellproliferation induziert und Checkpoints des Zellzyklus werden inaktiviert. Dies führt zu einer genetischen Instabilität und Immortalisierung der HPV-infizierten Zellen [3] [18].

5.1.3 Klassifikation

5.1.3.1 Histopathologische Klassifikation

In bis zu 85% der Fälle handelt es sich beim Analkarzinom um Plattenepithelkarzinome, 5-10% sind Adenokarzinome und selten werden dermatologische Malignome wie das maligne Melanom oder aplastische Malignome nachgewiesen [19]. Die Vorläuferläsionen (AIN) des Analkarzinoms werden je nach Ausdehnung der Dysplasie in drei Grade eingeteilt (AIN1, AIN2, AIN3). Zytologisch unterschieden werden die prä-malignen Befunde zudem in niedriggradige Dysplasien (LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion), hochgradige Dysplasien (HSIL: high grade squamous intraepithelial lesion) sowie Dysplasien unbestimmter Signifikanz (ASCUS: atypical

squamous cells of undetermined significance). ASCUS werden generell zu den LSIL gezählt und entsprechen histologisch einer AIN1/Condylomata acuminata. HSIL der AIN2-3 dagegen entsprechen bereits einem Analkarzinom [7] [14]. Eine histologische Klassifikation anhand des Malignitätsgrades (Grading, G1: gut differenziert, G2: mäßig differenziert, G3: schlecht differenziert, G4: undifferenziert) wird ebenfalls erhoben und ist von prognostischem Wert [20].

5.1.3.2 Klassifikation nach Lokalisation

Der Analkanal ist ca. 3cm lang und entspricht dem distalsten Teil des Gastrointestinaltraktes. Er beginnt proximal am anorektalen Übergang am Oberrand der Puborektalschlinge und endet an der Linea anocutanea. Proximal ist der Analkanal von Rektumschleimhaut ausgekleidet und geht an der Linea dentata durch ein Übergangsepithel in das Anoderm aus Plattenepithel über. Analrandkarzinome ziehen sich von der Linea anocutanea bis zu einem Radius von 5cm distal davon [11] [21]. Die Unterscheidung der Analrand- von den Analkanalkarzinomen ist wichtig, da Analkanalkarzinome sich meist schlechter differenzieren und aggressiver präsentieren [3] [19].

5.1.4 Metastasierung

Die Metastasierung der Analkarzinome erfolgt vorwiegend lymphogen und hängt von der Tumorlokalisation ab. Perianale Karzinome bis zur Linea dentata metastasieren in der Regel in die Inguinallymphknoten. Die Lymphdrainage an und proximal der Linea dentata erfolgt in die perirektalen Lymphknoten (anorektal, perirektal, sakral) und die parailiakalen Lymphknoten und bei weiter proximaler Lage in die inferioren Mesenteriallymphknoten. Eine direkte Tumordinvasion in Analsphinkter, Vagina, Harnblase oder Prostata ist möglich sowie eine hämatogene Metastasierung vorwiegend in Leber, Lunge und Knochen [2] [7].

5.1.5 Diagnostik und Staging

Initiale Symptome eines Analkarzinoms können rektale Blutungen (45%), Schmerzen und ein Fremdkörpergefühl im Analbereich (30%) sowie bei fortgeschrittenen Tumoren auch Stuhlunregelmäßigkeiten sein. Die standardisierte Diagnostik umfasst neben einer ausführlichen Anamnese inklusive der Abklärung von Risikofaktoren (Immundefizienz

einschließlich HIV-Infektion, rezeptiver Analverkehr, Vorerkrankungen mit HPV-assoziierten anogenitalen Läsionen, Nikotinabusus), eine digitorektale Untersuchung (DRE), eine Palpation der inguinalen Lymphknoten sowie eine Rektoskopie/Anoskopie. Obligat zur Dignitätsklärung und zur Abgrenzung vom ultratiefen Rektumkarzinom ist die Biopsie zur Materialgewinnung und histopathologischen Untersuchung [2] [3] [7]. Der endoanale Ultraschall (EAUS) liefert Informationen zur Tumortiefe und Sphinkterinfiltration [22]. Die Beurteilung der gesamten pelvinen Lymphknoten erfolgt mittels Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) des Beckens und eine Computertomographie (CT) des Abdomens und des Thorax zur Metastasensuche. Aufgrund der Assoziation zwischen Analkarzinomen und HPV sollte bei Frauen eine gynäkologische Untersuchung erfolgen zum Ausschluss eines Zervixkarzinoms [2] [3]. Bei Unsicherheit bezüglich des Lymphknotenbefalls kann ergänzend eine Positronen-Emissions-Tomographie (PET)-CT erfolgen. In einer Metaanalyse konnte nachgewiesen werden, dass eine PET-CT-Untersuchung in 21% zu einer Änderung des Tumorstadiums führte [23] [24]. Bei unklarem HIV-Status sollte eine HIV-Testung erwogen werden [2] [25]. Die TNM-Klassifikation erfolgt entsprechend der Klassifikation der „Union for international cancer control (UICC)“ sowie der „American Joint Committee on Cancer“ (AJCC) [3] [26].

TNM-Klassifikation und Tumorstadieneinteilung nach UICC [20]

T - Primärtumor

| | |
|-----|---|
| TX | Primärtumor kann nicht beurteilt werden |
| T0 | Kein Anhalt für Primärtumor |
| Tis | Carcinoma in situ, HSIL, AIN II-III |
| T1 | Tumor ≤ 2 cm in größter Ausdehnung |
| T2 | Tumor >2 cm und ≤ 5 cm in größter Ausdehnung |
| T3 | Tumor > 5cm in größter Ausdehnung |
| T4 | Tumor jeder Größe mit Infiltration in benachbarte Organe, z.B. Vagina, Urethra oder Harnblase |

Anmerkung: Die direkte Infiltration der Rektumwand, der perianalen Haut oder Subkutis oder allein der Sphinktermuskulatur wird nicht als T4 klassifiziert.

N – Regionäre Lymphknoten

| | |
|----|---|
| NX | Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden |
|----|---|

- N0 keine regionären Lymphknoten Metastasen
 N1 Metastasen in perirektalen Lymphknoten
 N2 Metastasen in unilateralen Lymphknoten iliakal und/oder unilateralen Lymphknoten inguinal und/oder perirektalen und inguinalen Lymphknoten
 N3 Metastasen in bilateralen Lymphknoten iliakal und/oder bilateralen Lymphknoten inguinal

M - Fernmetastasen

- MX Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
 M0 keine Fernmetastasen
 M1 Fernmetastasen

Tabelle 1: Tumorstadieneinteilung des Analkarzinoms nach UICC

| | | | |
|--------------|---------|---------|----|
| Stadium 0 | Tis | N0 | M0 |
| Stadium I | T1 | N0 | M0 |
| Stadium II | T2/T3 | N0 | M0 |
| Stadium IIIA | T1-T3 | N1 | M0 |
| | T4 | N0 | M0 |
| Stadium IIIB | T4 | N1 | M0 |
| | Jedes T | N2/N3 | M0 |
| Stadium IV | Jedes T | Jedes N | M1 |

Wittekind C et al. *International Union Against Cancer (UICC): TNM Classification of malignant Tumors. 7th Edition*. Wiley. 2010

5.1.6 Therapie

5.1.6.1 Primärtherapie beim nicht-metastasierten Analkarzinom

Bis in die 1970 Jahre wurde das Analkarzinom routinemäßig mittels abdominoperinealer Rektumexstirpation (APR) behandelt. Die Rezidivraten waren hoch und das 5-Jahres-Überleben (5JÜ) lag nur bei 40-70% bei zudem hohem Anteil permanenter Kolostomien. Im Jahr 1974 erzielten Nigro et al. erstmals teils eine komplette Tumorregression mit einer präoperativen Chemotherapie (Cht) mit 5-Fluouracil (5-FU) und Mitomycin-C (MMC) oder Porfiromycin in Kombination mit einer Radiotherapie (RT)

[27]. Durch diese kombinierte Radiochemotherapie (RChT) konnte die Lokalrezidivrate auf 14-37% gesenkt und das 5-Jahres-Überleben auf 72-89% erhöht werden [2] [7].

Aufgrund der erheblichen Toxizität der Therapie widmeten sich mehrere Studien der Untersuchung, ob eine alleinige RT oder der Verzicht auf eines der Zytostatika eine ähnliche Wirksamkeit hätte. In allen Untersuchungen war eine kombinierte RChT überlegen und gilt seither als Primärtherapie des Analkarzinoms [7] [28] [29]. Eine alternative Kombination mit ähnlicher Wirksamkeit in Bezug auf 5JÜ und Kolostomieraten ist 5-FU/Cisplatin [2] [30]. Weiterhin zeigte sich ein vergleichbares klinisches Ansprechen nach 3 Jahren mit Capecitabine/Mitomycin-C [31]. Insgesamt konnte in verschiedenen Studien ein 5JÜ nach Radiochemotherapie je nach Tumorstadium zwischen 70-86% ermittelt werden sowie ein kolostomiefreies Überleben zwischen 69-82%, wobei eine Tumorgöße >4cm mit einer erhöhten Kolostomierate einherging [30] [32].

Bei Verdacht auf das Vorliegen eines Analrandkarzinoms von bis zu 2cm Durchmesser ohne Infiltration des Sphinkterapparates oder benachbarter Organe sollte bereits zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung die komplette Exzision mit einem Sicherheitsabstand von 0,5cm erfolgen. Bei Vorliegen eines Analkanalkarzinoms von bis zu 2cm Durchmesser kann ebenfalls eine entsprechende R0-Exzision erwogen werden. Zur Behandlung lokalisierter Analkanalkarzinome nach inkompletter Exzision sollte eine kombinierte Radiochemotherapie durchgeführt werden. Alternativ kann eine Nachexzision erwogen werden. Bei älteren oder multimorbiden Patienten kann bei lokalisiertem Analkanalkarzinom anstatt einer kombinierten Radiochemotherapie eine alleinige Radiotherapie erwogen werden [3].

Bei einem Progress unter bzw. fehlender vollständiger Remission 26 Wochen nach Abschluss der RChT oder einem Lokalrezidiv muss nach erfolgtem Re-Staging eine APR mit permanenter Kolostomie erfolgen. Durch APR nach rezidiertem Analkarzinom resultieren 5-Jahres-Überlebensraten von 40-50% [33]. In manchen Fällen erfolgt auch eine temporäre Kolostomie vor RChT bei rektovaginalen oder rektovesikalen Fisteln oder zur Symptomlinderung [25]. Akute Nebenwirkungen der RChT sind lokale Erytheme/Erosionen, Proktitis, Diarrhoe und hämatologische Toxizität [34]. Späte Effekte können Inkontinenz, Fisteln, Ulzerationen, Analstenosen sowie Harnentleerungsstörungen und sexuelle Dysfunktion sein [2].

5.1.6.2 Therapie des residualen oder rezidivierenden Analkarzinoms

Bei bis 30% der Patienten mit Analkarzinom kommt es nicht zu einer vollständigen Remission bzw. zu einem Lokalrezidiv. Bei lokalem Residual- oder Rezidivtumor nach primärer RChT ohne Nachweis einer Fernmetastasierung sollte eine chirurgische Resektion durchgeführt werden. Wenn zusätzlich zu einem Residual- oder Rezidivtumor lokoregionäre Lymphknotenmetastasen nach primärer RChT bestehen, sollte eine abdominoperineale Rektumexstirpation erfolgen und eine Resektion der betroffenen Lymphknoten evaluiert werden [3].

5.1.6.3 Durchführung der Chemotherapie mit 5-FU/MMC und der RT

Es erfolgt eine CT-basierte Bestrahlungsplanung mit einem Zielvolumen, welches neben dem Primärtumor das Perineum und den regionären Lymphabfluss erfasst. Die im angloamerikanischen Raum überwiegende Mitbestrahlung der inguinalen Lymphknoten wird in Deutschland nur bei höhergradigen Tumorstadien oder inguinalem Tumorbefall empfohlen. Eine verminderte Toxizität kann mittels intensitätsmodulierter Radiotherapie (IMRT) erreicht werden. Die Felder werden in der Regel mit 45 Gy und einer Einzeldosis von 1,8 Gy bestrahlt. Anschließend erfolgt nur noch die Bestrahlung der Tumorregion (Boost) mit einer Enddosis je nach Tumolvolumen von bis zu 59,4 Gy. Die Dosis der Radiotherapie soll laut aktueller S3-Leitlinie zum Analkarzinom [3] die Dosis von 59,4 Gy nicht überschreiten.

In der ersten und fünften Woche der Bestrahlung wird 5-FU ($5 \times 1000 \text{mg/m}^2$) als Dauerinfusion und Mitomycin (10mg/m^2) an den Tagen 1 und 29 als Bolus verabreicht [7]. Alternativ erfolgt die 5-FU-Gabe kontinuierlich $200 \text{mg/m}^2/24 \text{h}$ über die gesamte Zeit der Radiotherapie sowie eine nur einmalige MMC-Gabe an Tag 1 mit ggf. erhöhter Dosis (max. 20mg/m^2) [35].

5.1.6.4 Primärtherapie beim metastasierten Analkarzinom

Weniger als 20% der Patienten mit Analkarzinom sind zum Diagnosezeitpunkt metastasiert. Das 5-Jahres-Überleben bei metastasierten Patienten liegt bei etwa 30% [36]. Bei einer Metastasierung außerhalb des Beckens (u.a. Leber, Lunge, extrapelvine LK) sowie nichtresektablen Lokalrezidiven kann eine platinbasierte Chemotherapie erwogen werden [3]. Zum Einsatz kommen 5-FU/Cisplatin, Carboplatin/Paclitaxel oder Folinsäure/5-FU/Oxaliplatin (FOLFOX) [2] [11] [25]. Es gibt Hinweise, dass modifizierte

Regime wie Docetaxel/Cisplatin und Folinsäure/5-FU/Cisplatin (FOLFCIS) zu vergleichbaren oder besseren Ergebnissen führen [37] [38].

Auch Immuntherapeutika wie Nivolumab und Pembrolizumab haben in Studien ein Ansprechen von 24% gezeigt [39]. Da bisher Vergleichsstudien fehlen und die in die Studien eingeschlossenen Patienten einen guten Performance-Status vorweisen mussten, sind die bisherigen Daten nur eingeschränkt interpretierbar. Bei synchron metastasiertem Analkarzinom kann zudem eine additive lokale Radiotherapie erwogen werden [3].

5.1.7 Response-Beurteilung und Nachsorge

Eine Response-Beurteilung nach kombinierter RChT sollte mittels DRE und Proktoskopie nach 11 Wochen, 18 Wochen und 26 Wochen nach Beginn der Radiochemotherapie erfolgen. Nach 26 Wochen sollte eine MRT-Untersuchung als Ausgangsbefund für die Nachsorge erfolgen und bei Verdacht auf einen residuellen lokalen Tumorbefund weiterführende Diagnostik mit Gewebeprobe erfolgen. Nach einer primären RChT beginnt die Nachsorge nach Feststellung einer vollständigen Remission und somit 26 Wochen nach Beginn der Behandlung und erfolgt für 5 Jahre. Nach primärer R0-Resektion schließt sich die Nachsorge unmittelbar an.

Patienten sollten nach erfolgreichem Therapieabschluss alle 3-6 Monate in den ersten zwei Jahren und dann alle 6-12 Monate bis zum fünften Jahr mittels Inspektion des Anus, DRE und Palpation der Inguinalregion nachuntersucht werden. Die kürzeren Intervalle gelten für Patienten mit erhöhtem Risiko, dazu gehören Patienten ab einem Tumorstadium T3 sowie stadienunabhängig alle HIV-positiven und immunsupprimierten Patienten. Falls vom Patienten toleriert kann zusätzlich jeweils eine Proktoskopie/Rektoskopie erfolgen. Zudem sollte alle 6 Monate eine Bildgebung mittels MRT im 1. Jahr erfolgen und anschließend einmal jährlich [3]. Da nur selten Rezidive nach drei Jahren auftreten (<1%) werden erweiterte Bildgebungen danach nicht empfohlen. Rezidive treten meist lokoregionär auf, weshalb reguläre CT-Untersuchungen zur Metastasensuche kontrovers diskutiert werden [7] [25].

5.1.8 Prävention

Seit 2007 empfiehlt die Ständige Impfkommission (STIKO) eine Impfung aller Mädchen zwischen 9 und 14 Jahren gegen HPV sowie eine Nachholimpfung bis zum 17.

Lebensjahr zur Reduktion der Erkrankung am Zervixkarzinom. Da auch Jungen HPV-assoziierte Erkrankungen wie Penis-, Analkarzinome sowie Karzinome der Mundhöhle und des Rachens entwickeln können, wurde im Jahr 2018 beschlossen, dass auch Jungen im selben Alter gegen HPV geimpft werden sollten. Bisher lag die Impfquote bei Mädchen in Deutschland in einer Erhebung von 2014 nur bei 42,5% der 17-jährigen sodass von einer soliden Herdenprotektion aktuell noch nicht ausgegangen werden kann. Studien aus Ländern mit hoher Impfquote bei Mädchen und Jungen, z.B. Australien mit 70-85%, konnten eine signifikante Senkung HPV-assoziiertes anogenitaler Läsionen aufzeigen [40] [41] [42].

In Deutschland sind aktuell zwei Impfstoffe gegen HPV verfügbar, der bivalente Impfstoff Cervarix® gegen die beiden HR-HPV Subtypen 16 und 18, sowie seit 2016 der neunvalente Impfstoff Gardasil®9, welcher zusätzlich gegen die HR-HPV Subtypen 31, 33, 45, 52 und 58 und die LR-HPV Subtypen 6 und 11 schützt. Der neunvalente Impfstoff Gardasil®9 folgte auf den quadrivalenten Impfstoff Gardasil® gegen die Subtypen 6, 11, 16 und 18. Eine Impfeffektivität von 90-100% konnte in Studien belegt werden [43]. Es konnte eine höhere Effektivität bei HPV-naiven Personen nachgewiesen werden, weshalb eine Empfehlung zur Impfung für Personen vor Beginn der sexuellen Aktivität besteht [40]. Da auch bei HPV-Positivität eine Immunität gegen die restlichen HPV-Subtypen erreicht werden kann, gibt es in Amerika bereits die Zulassung zur Impfung bis zum 45. Lebensjahr [44] [45].

5.2 Ziel und Fragestellung

Das Analkarzinom ist eine seltene Tumorentität, welche bei frühzeitiger Diagnose oft einem kurativen Therapieansatz zugeführt werden kann. Die ansteigende Inzidenz und Sterberate geben Anreiz zur Identifikation der Risikofaktoren, welche die Prognose, Rezidivrate sowie Sterblichkeit beeinflussen. In dieser Studie soll analysiert werden, inwiefern das Gesamtüberleben und die Rezidivrate beim Analkarzinom vom Geschlecht, dem initialen Tumorstadium, dem Vorliegen eines Lymphknotenbefalls oder einer Fernmetastasierung, der Tumorlokalisation, dem Tumordurchmesser sowie vom Vorliegen einer Infektion mit HIV oder HPV beeinflusst werden. Insbesondere HPV als einer der wichtigsten Faktoren in der Entstehung des Analkarzinoms, soll in dieser Studie hinsichtlich Vorkommen der einzelnen Subtypen und deren Effekt auf das Überleben untersucht werden. Ziel ist es die prognostisch relevanten Marker zu

ermitteln, sodass diese genutzt werden können, um Patienten mit einem höheren Mortalitäts- und Rezidivrisiko zu identifizieren und ggf. einer aggressiveren Therapie und engmaschigeren Nachsorge zuzuführen.

6 Methoden

6.1 Studienprotokoll

Das Patientenkollektiv wurde aus der Sprechstunde der Koloproktologie am Krankenhaus Waldfriede Berlin unter der Leitung von Chefarzt Dr. Roland Scherer rekrutiert und beinhaltet Patienten, die dort zwischen 2008 und April 2019 mit der Diagnose eines Analkarzinoms vorstellig wurden (n=145).

Eingeschlossen wurden alle Patienten mit Diagnose eines Analkarzinoms (ICD-10 C21. Bösartige Neubildung des Anus und des Analkanals) nach histologischer Sicherung eines Plattenepithelkarzinoms der Analregion. Es handelte sich mehrheitlich um Erstdiagnosen, welche zur weiteren Diagnostik und Therapie zugewiesen wurden und nur in n=2 Fällen um ein Tumorrezidiv.

Ausgeschlossen wurden im 1. Revisionsschritt Patienten, bei denen vom Plattenepithelkarzinom abweichende Tumorentitäten nachgewiesen wurden (AIN n=1, Malignes Melanom n=1). Im 2. Revisionsschritt wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen die retrospektive Datenlage für eine zuverlässige statistische Auswertung ungenügend war (n=18).

Nach den Revisionsschritten konnten insgesamt n=125 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Analregion analysiert werden.

6.2 Datenerhebung

Die Datenerhebung erfolgte anhand der jeweiligen Patientenakten aus dem Archiv der Koloproktologie am Krankenhaus Waldfriede. Neben den persönlichen Patientendaten (Name, Geburtsdatum, Geschlecht) wurden Informationen zur Erkrankung (Datum und Ort der Erstdiagnose, Lokalisation und Ausdehnung des Tumors, TNM-Stadium) und zur Darstellung des Tumors in der Bildgebung erfasst (Rektoskopie/Koloskopie, Endosonographie, MRT, CT). Es wurden alle durchgeführten Untersuchungen und Befunde bei Diagnosestellung sowie im Verlauf der 24-monatigen Nachsorge durch den leitenden Oberarzt Dr. Thorsten Unglaube am Zentrum für Darm- und Beckenbodenchirurgie am Krankenhaus Waldfriede dokumentiert. Extern erhobene radiologische Befunde wurden intern durch die radiologische Abteilung beurteilt und validiert. Die Nachsorgeuntersuchungen erfolgten durch den leitenden Oberarzt Dr. Thorsten Unglaube in der Regel ab 6 Wochen nach Beendigung der

Radiochemotherapie alle drei Monate im ersten Jahr und dann im Abstand von sechs Monaten bis zum zweiten Jahr. Anschließend erfolgten die Untersuchungen meist extern jährlich bis zum fünften Jahr. Das detaillierte Nachsorgeschema ist nachfolgend abgebildet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Nachsorge

| Untersuchung | Wochen | Monate | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------|--------|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | 6 | 3 | 6 | 9 | 12 | 18 | 24 | 36 | 48 | 60 |
| Anamnese, körperliche Untersuchung | x | x | x | x | x | x | x | x | x | x |
| Abdomen-Sonographie | | | x | | x | x | x | x | x | x |
| Röntgen-Thorax | | | | | x | | | x | | x |
| Rektoskopie | x | x | x | x | x | x | x | | | |
| Endosonographie | x | x | x | x | x | x | x | | | |
| MRT-Becken | | x | x | | x | x | x | | | |

Bei Patienten, die extern eine Radiotherapie und/oder Chemotherapie erhielten, wurde die genaue Durchführung mit Strahlendosis und die eingesetzten Chemotherapeutika mit Dosierung sowie die eingetretenen Nebenwirkungen dokumentiert. Bei erfolgter operativer Versorgung wurden die genaue Prozedur und postinterventionelle Komplikationen erfasst. Zudem wurde, falls untersucht, der erhobene HIV- und HPV-Status dokumentiert. Neben der retrospektiven Datenauswertung bezüglich des HPV-Status erfolgte zudem bei unbekanntem HPV-Status eine Nachuntersuchung der Gewebeproben aus den Archiven des Instituts für Pathologie Berlin-Grünwald sowie aus der Gemeinschaftspraxis für Pathologie und Neuropathologie PATHOTRES in Berlin. Die Nachuntersuchung auf die HPV-Subtypen erfolgte durch das MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik in Trier unter der ärztlichen Leitung von Prof. Dr. med. Dr. phil. J. Kriegsmann. Es konnte somit von n=87 Patienten der HPV-Status ermittelt werden.

Anhand der Patientenakten waren Rezidiv-/Persistenz- sowie Sterberaten für n=107 Patienten bekannt. Davon war für n=90 Patienten eine 60-monatige Nachsorge vorhanden. Eine Tumorpersistenz lag vor, wenn die primäre Therapie nicht zu einer vollständigen Remission geführt hat. Als Tumorrezidiv galt ein lokoregionäres Wiederauftreten des Tumors oder eine Fernmetastasierung nach initial erfolgreicher primärer Therapie.

Bei unklarer Datenlage zum Überleben und dem Auftreten eines Rezidivs nach Ende der 24-monatigen Nachsorge erfolgte die schriftliche bzw. telefonische Kontaktaufnahme zu den Patienten, deren Angehörigen oder Hausärzten und ambulant behandelnden Proktologen mit Bitte um Zusendung von Arztbriefen und Befunden zur Bestätigung. Die restlichen eingeschlossenen Patienten (n=35) gingen im Hinblick auf Geschlecht, Alter, Tumorlokalisation, Tumorausdehnung, TNM-/UICC-Stadium und ggf. HIV-/HPV-Status in die Studie ein.

6.3 HPV-Testung

Der HPV-Nachweis erfolgte mittels eines Massenspektrometrie-basierten Verfahrens, welches durch Prof. Dr. Jörg Kriegsmann et al. an der Universität Heidelberg zur Detektion von 19 verschiedenen HPV-Subtypen eingesetzt wurde. Dabei wird ein Matrix-Assisted-Laser-Desorption-Ionization Time of Flight (MALDI-TOF)-Massenspektrometer eingesetzt. Die Virus-DNA wird aus Formalin-Fixed-Paraffin-Embedded (FFPE)-Gewebeproben extrahiert und mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert und durch eine Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)-Testung auf die DNA-Qualität untersucht.

Die Untersuchungsmethode dient dem Nachweis von HPV-Subtypen, die durch die International agency for research on cancer (IARC) als karzinogen (Gruppe 1), als wahrscheinlich (Gruppe 2A) und als möglicherweise karzinogen (Gruppe 2B) oder als unklassifiziert (Gruppe 3) eingestuft werden [46]. Die folgende Tabelle (Tabelle 3) gibt einen Überblick über die nachweisbaren HPV-Subtypen und deren Klassifikation.

Tabelle 3: Durch Massenspektrometrie nachweisbare HPV-Subtypen und deren Risikoklassifikation nach IARC

| Risikoklassifikation | Durch Massenspektrometrie nachweisbare HPV-Subtypen |
|--|--|
| IARC Gruppe 1 (karzinogen) | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 |
| IARC Gruppe 2A (wahrscheinlich karzinogen) | 68 |
| IARC Gruppe 2B (möglicherweise karzinogen) | 53, 66, 67, 73 |

IARC=international agency for research on cancer; HPV= humanes Papillomvirus
Kriegsmann M et al. *Detection of HPV-Subtypes by Mass Spectrometry in FFPE Tissue Specimens: A Reliable Tool for Routine Diagnostics*. J Clin Pathol. 2017 May;70(5): p. 417-423

6.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software SPSS® (Statistical Package for Analysis in Social Science, 25.0, SPSS-Inc., Chicago, Illinois, USA). Das Signifikanzniveau wurde mit einem P-Wert $< 0,05$ festgelegt. Die primären Endpunkte der Studie waren das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben 5 Jahre nach Erstdiagnose.

Zunächst erfolgte eine deskriptive Häufigkeitsanalyse mit Prozent, Mittelwert- (Standardabweichung) und Medianangaben.

Zur Berechnung und Darstellung des medianen Gesamtüberlebens (OS=Overall survival) sowie des Progressionsfreien Überlebens (PFS) wurde die Kaplan-Meier-Methode verwendet. Hierbei konnten sowohl Patienten mit sicherem Todes- oder Rezidivdatum (sicheres Ereignis, Status 1) als auch Patienten, für die nur das letzte Vorstellungsdatum in der Klinik oder beim Hausarzt bekannt war (zensiertes Ereignis, Status 0), eingeschlossen werden. Bei der Analyse von Überlebenszeiten mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode wurde für alle Patienten mit einem Überleben ≥ 60 Monate die Überlebenszeit gleich 60 Monate gesetzt (zensiertes Ereignis, Status 0). Lag das letzte Vorstellungsdatum innerhalb des Zeitraums von 60 Monaten, galt das Ereignis ebenfalls als zensiert. Trat der Tod oder das Rezidiv innerhalb von 60 Monaten ein, galt das Ereignis als sicher eingetreten (Status 1). Da in einigen Fällen nur das Sterbejahr bekannt war, wurde eine Sensitivitätsanalyse mit jeweils dem ersten und letzten Tag des Jahres durchgeführt. Da sich keine relevanten Unterschiede ergeben haben, wurde für die Ergebnisdarstellung die Mitte des Jahres gewählt.

Explorative Gruppenvergleiche hinsichtlich der Ereigniszeitverteilungen wurden mit dem Log-Rank-Test vorgenommen. Multivariable Analysen wurden mit dem Cox-Regressionsmodell berechnet. Dabei wurden die signifikanten unabhängigen Variablen aus der univariablen Analyse zusammen mit Kovariablen auf Signifikanz geprüft.

Für den Vergleich von Häufigkeiten innerhalb von zwei Patientenkollektiven wurde der Chi-Quadrat-Test angewandt (Signifikanztest auf Unabhängigkeit in der Kontingenztafel).

7 Ergebnisse

7.1 Häufigkeiten

7.2 Patientenkollektiv

Das Gesamtkollektiv (n=125) bestand aus n=58 (46,4%) weiblichen und n=67 (53,6%) männlichen Patienten zwischen 30 und 84 Jahren mit einem mittleren Alter bei Erstdiagnose von 59,95 Jahren bei Frauen und 56,64 Jahren bei Männern (s. Tabelle 4). Der Tumor war bei n=95 (76%) Patienten im Analkanal lokalisiert mit einem höheren Frauenanteil (40% vs. 36%) und bei n=30 (24%) am Analrand mit einem höheren Männeranteil (17,6% vs. 6,4%). Die Tumorausdehnung betrug bei n=88 (72,7%) der Patienten 1/3 der Zirkumferenz, bei n=28 (32,1%) zwischen 1/3 und 2/3 der Zirkumferenz und bei n=5 (4,1%) bestand ein stenosierendes Wachstum (>2/3 der Zirkumferenz). Ein initial frühes Tumorstadium T1 bestand bei n=26 (20,8%) und T2 bei n=59 (47,2%). Ein Tumor im T3-Stadium war in n=28 (22,4%) der Fälle vorhanden und ein T4-Stadium hatten n=11 (8,8%) der Patienten. Initial lymphogen metastasiert (N+) waren n=46 (36,8%) Patienten, während n=67 (53,6%) keine befallenen Lymphknoten (N0) zeigten. Bei n=11 (8,8%) Patienten war keine Aussage zum Lymphknotenstatus dokumentiert (NX). Bereits eine Fernmetastasierung bei Diagnosestellung hatten lediglich n=3 (2,4%) Patienten, wobei ein Patient hepatisch und pulmonal metastasiert, ein Patient nur hepatisch und ein Patient nur ossär metastasiert war. Anhand dieser Informationen ließ sich das UICC-Stadium für 107 Patienten ermitteln. Dabei waren n=16 (15%) Patienten im UICC-Stadium I, n=47 (43,9%) im UICC-Stadium II, n=18 (16,8%) im UICC-Stadium IIIA, n=23 (21,5%) im UICC-Stadium IIIB und n=3 (2,8%) im UICC-Stadium IV. Der histologische Malignitätsgrad war bei n=17 (13,6%) als G1 klassifiziert (gut differenziert), bei n=70 (56%) als G2 (mäßig differenziert) und bei n=20 (16%) als G3 (schlecht differenziert). Bei n=18 (14,4%) konnte keine Aussage zum Differenzierungsgrad getroffen werden (GX). Ein positiver HIV-Status bestand bei n=30 (24%) Patienten, wobei alle HIV-positiven Patienten männlich waren. HIV-negativ waren n=95 (76%) Patienten. Das mittlere Follow-up der nachbeobachteten Patienten (n=107) lag bei 32,05 Monaten (+/-SW 17,18, Median 24 Monate).

Tabelle 4: Baseline-Charakteristika des Patientenkollektivs

| Charakteristikum | N (%) oder Median (Spanne) | | |
|-----------------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|
| | Gesamt | Frauen | Männer |
| | 125 | 58 (46,4) | 67 (53,6%) |
| Alter bei Erstdiagnose | | | |
| Alter (MW +/- SD) | 58,18 Jahre (11,53) | 59,95 Jahre (12,40) | 56,64 Jahre (10,57) |
| Alter (Median) | 57 Jahre (30-84 Jahre) | 59 Jahre (30-84) | 55 Jahre (37-82) |
| Tumorlokalisation | | | |
| Analkanalkarzinom | 95 (76%) | 50 (40%) | 45 (36%) |
| Analrandkarzinom | 30 (24%) | 8 (6,4%) | 22 (17,6%) |
| Tumorausdehnung (SSL) | 121/125 | | |
| <1/3 | 88 (72,7%) | 39 (32,2%) | 49 (40,5%) |
| 1/3-2/3 | 28 (23,1%) | 17 (14,04%) | 11 (9,06%) |
| >2/3 | 5 (4,1%) | 2 (1,6%) | 3 (2,5%) |
| T-Stadium | | | |
| TX | 1 (0,8%) | 0 | 1 (0,8%) |
| T1 | 26 (20,8%) | 12 (9,6%) | 14 (11,2%) |
| T2 | 59 (47,2%) | 22 (17,6%) | 37 (29,6%) |
| T3 | 28 (22,4%) | 17 (13,6%) | 11 (8,8%) |
| T4 | 11 (8,8%) | 7 (5,6%) | 4 (3,2%) |
| N-Stadium | | | |
| NX | 12 (9,6%) | 4 (3,2%) | 8 (6,4%) |
| N0 | 67 (53,6%) | 33 (26,4%) | 34 (27,2%) |
| N1 | 20 (16%) | 12 (9,6%) | 8 (6,4%) |
| N2 | 13 (10,4%) | 6 (4,8%) | 7 (5,6%) |
| N3 | 7 (5,6%) | 2 (1,6%) | 5 (4%) |
| N+ (positiv, nicht klassifiziert) | 6 (4,8%) | 1 (0,8%) | 5 (4%) |
| M-Stadium | | | |
| MX | 1 (0,8%) | 1 (0,8%) | 0 |
| M0 | 121 (96,8%) | 57 (45,6%) | 64 (51,2%) |
| M1 | 3 (2,4%) | 1 (0,8%) | 2 (1,6%) |
| Metastasen hepatisch | 2 (1,6%) | 0 | 2 (1,6%) |
| Metastasen pulmonal | 1 (0,8%) | 0 | 1 (0,8%) |
| Metastasen ossär | 1 (0,8%) | 1 (0,8%) | 0 |
| G-Stadium | | | |
| GX | 18 (14,4%) | 8 (6,4%) | 10 (8%) |
| G1 | 17 (13,6%) | 5 (4%) | 12 (9,6%) |
| G2 | 70 (56%) | 33 (26,4%) | 37 (29,6%) |
| G3 | 20 (16%) | 12 (9,6%) | 8 (6,4%) |
| UICC Stadium | 107/125 | | |
| UICC I | 16 (15%) | 9 (8,4%) | 7 (6,6%) |
| UICC II | 47 (43,9%) | 23 (21,5%) | 24 (22,4%) |

| | | | |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| UICC IIIA | 18 (16,8%) | 10 (9,3%) | 8 (7,5%) |
| UICC IIIB | 23 (21,5%) | 10 (9,3%) | 13 (12,2%) |
| UICC IV | 3 (2,8%) | 1 (0,9%) | 2 (1,9%) |
| HPV-Status | 87/125 | | |
| HPV positiv | 76 (87,35%) | 37 (42,52%) | 39 (44,82%) |
| HPV negativ | 11 (12,64%) | 4 (4,59%) | 7 (8,04%) |
| HIV-Status | | | |
| HIV positiv | 30 (24%) | 0 | 30 (24%) |
| HIV negativ | 95 (76%) | 58 (46,4%) | 37 (29,6%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; HPV=Humanes Papillomvirus;
SSL=Steinschnittlage

7.2.1 Therapie

Vom Gesamtkollektiv lagen bezüglich der Primärtherapie für n=108 Patienten Daten vor. Davon erhielten n=82 (78,8%) Patienten eine kombinierte Radiochemotherapie, wobei bei fast allen (n=81) eine Chemotherapie mit 5FU/MMC durchgeführt wurde und nur bei einem Patienten eine Chemotherapie mit 5-FU/Cisplatin aufgrund einer bekannten vasospastischen Angina. Eine alleinige R0-Resektion wurde bei n=17 (15,7%) Patienten durchgeführt. Bei n=18 (16,7%) Patienten bestand nach Resektion eine R1- oder RX-Situation sodass bei jeweils n=5 Patienten (4,6%) anschließend eine Nachresektion und bei n=13 (12%) Patienten eine Radiochemotherapie durchgeführt wurde. Bei n=8 (7,4%) Patienten wurde vor Radiochemotherapie ein Kolostoma angelegt und bei n=7 (6,5%) Patienten erfolgte bei Tumorpersistenz nach Radiochemotherapie eine APR.

Ein Patient erhielt eine palliative Bestrahlung des Tumors und ein weiterer Patient erhielt eine palliative Chemotherapie mit 5-FU/Cisplatin/Folinsäure bei M1-Status. Ein Patient erhielt eine APR ohne Radiochemotherapie.

Die Radiotherapie erfolgte in IMRT-Technik (Intensitätsmodulierte Radiotherapie) mit einer medianen Strahlendosis von 59,4 Gy (Mittelwert 57,10 Gy +/- SW 3,69). Über die Hälfte der Patienten erhielt eine Gesamtstrahlendosis zwischen 54 - 59,4 Gy (59,75%), 34,15% der Patienten erhielten ≤54Gy und nur 6,1% erhielten mehr als 59,4 Gy. Bei zwei Patienten kam es zum Therapieabbruch. Dabei erhielt ein Patient nur 36 Gy, da die Therapie vor dem Tumorboost aus unbekanntem Gründen abgebrochen wurde. Bei einem weiteren Patienten wurden die letzten drei Bestrahlungssitzungen aufgrund von Nebenwirkungen in Form von abdominellen Schmerzen und Übelkeit nicht durchgeführt, sodass eine Gesamtstrahlendosis von 54Gy erreicht wurde (s. Tabelle 5).

Tabelle 5: Primärtherapie

| Primärtherapie | N (%) |
|--|--------------|
| Gesamt | 108/125 |
| Primärtherapie kurativ | |
| R0-Resektion | 17 (15,7%) |
| R1/X-Resektion + Nachresektion | 5 (4,6%) |
| R1/X-Resektion + RChT | 13 (12%) |
| RChT | 63 (58,3%) |
| RChT + APR im Verlauf | 7 (6,5%) |
| Kolostoma vor RChT | |
| Sigmoidostoma | 6 (5,5%) |
| Descendostoma | 2 (1,8%) |
| Primärtherapie palliativ | |
| Palliative ChT | 1 (0,9%) |
| Palliative RT | 1 (0,9%) |
| APR + Descendostoma | 1 (0,9%) |
| Chemotherapie | |
| 5FU + MMC | 81 (77,8%) |
| 5FU + Cisplatin | 1 (1%) |
| 5FU + Cisplatin + Folinsäure (palliativ) | 1 (1%) |
| Radiotherapie | |
| Gesamt | 82/125 |
| Gesamtstrahlendosis | |
| ≤ 54 Gy | 28 (34,1%) |
| <54 - ≤ 59,4 Gy | 49 (59,7%) |
| > 59,4 Gy | 5 (6,1%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; RChT=Radiochemotherapie; RT=Radiotherapie; ChT=Chemotherapie; 5FU=5-Fluoruracil; MMC=Mitomycin-C;

Nach Primärtherapie in kurativer Intention kam es bei n=20 (20,1%) von n=99 bekannten Verläufen zu einer Tumorpersistenz oder einem Tumorrezidiv. Es zeigte sich eine höhere Rezidiv-/Persistenzrate in der Gruppe nach alleiniger R0-Resektion (23,8%), gefolgt von den Patienten nach kombinierter Radiochemotherapie (19,2%). Detaillierte Informationen zur Rezidiv-/Persistenzlokalisierung nach jeweiliger Primärtherapie lassen sich der nachfolgenden Tabelle entnehmen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Tumorrezidiv/-persistenz nach kurativer Primärtherapie

| Primärtherapie kurativ | N (%) | Tumorrezidiv/-persistenz | N (%) | Rate Tumorrezidiv/-Persistenz |
|------------------------|---------------|---|------------|-------------------------------|
| R0-Resektion | 21 (21,2%) | Lokalrezidiv (2) + LK-Metastasen (1) LK-Metastasen (1) Fernmetastasen (1) | 5 (5%) | 23,8% |
| RCht | 78 (78,8%) | Pers. Tm anal (6) Lokalrezidiv (2) + LK-Metastasen (2) + Fernmetastasen (2) LK-Metastasen (2) Fernmetastasen (1) | 15 (15,1%) | 19,2% |
| Gesamt | 99/125 | | 20 (20,1%) | |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; LK=Lymphknoten; pers. Tm=persistierender Tumor; RCht=Radiochemotherapie; RT=Radiotherapie

Bei Tumorpersistenz oder Tumorprogress war für n=104 Patienten bekannt, ob eine Zweit- oder Drittlinientherapie durchgeführt wurde. Davon erhielten n=20 (19,2%) Patienten eine Zweitlinientherapie und n=4 Patienten (3,8%) eine Drittlinientherapie. Am häufigsten wurde als Zweitlinientherapie eine APR (n=8) oder kombinierte Radiochemotherapie (n=4) durchgeführt. N=3 Patienten erhielten eine anale Tumorresektion, n=1 Patient eine Resektion einer Leistenlymphknotenmetastase und n=1 Patient einer hepatischen Metastase. Eine RT erhielt n=1 Patient mit einer Leistenlymphknotenmetastase und n=1 Patient wurde zusätzlich reseziert. Detaillierte Informationen zur durchgeführten Zweit- und Drittlinientherapie abhängig von der Art der Tumorpersistenz oder des Tumorrezidivs sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt (Tabelle 7).

Bei den Patienten, die als Zweit- oder Drittlinientherapie ein Kolostoma erhalten haben, hatten signifikant mehr Patienten initial ein Tumorstadium T3/T4 (70% vs. 30% bei T1/T2-Stadium) (p=0,009, Chi-Quadrat-Test).

Tabelle 7: Zweit- und Drittlinientherapie

| Tumorlokalisation | N (%) | Zweitlinientherapie | Drittlinientherapie |
|-------------------------------------|----------------------|---|-------------------------|
| Gesamt | 104/125 | | |
| Persistierender analer Tumor | 5 (4,8%) | APR (3) APR + Cht (5FU/Cis) (1) Resektion (1) | Resektion (1) RT (1) |
| Lokalrezidiv + LK-Metastasen | 4 (3,8%) 3 (2,9%) | APR (4) Resektion anal (2) | Cht (5FU+Cis) (1) |

| | | | |
|------------------------------|----------|---|-----------------------------------|
| + Fernmetastasen | 2 (1,9%) | RChT (RT + 5FU/MMC) (2) Palliatives Kolostoma (1) | |
| Lymphogene Metastasen | 4 (3,8%) | LK-Resektion (1) RT (1) LK-Resektion + RT (1) RChT (RT + Capecitabine) (1) | APR + ChT (Cis)+ Nivolumab (1) |
| Fernmetastasen | 2 (1,9%) | RChT (RT Hirnmetastase + 5FU/Cis) (1) Resektion hep. Metastase (1) | |
| Gesamt N (%) | | 20 (19,2%) | 4 (3,8%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; APR=Abdominoperineale Rektumexstirpation; RChT=Radiochemotherapie; RT=Radiotherapie; ChT=Chemotherapie; 5FU=5-Fluoruracil; MMC=Mitomycin-C; Cis=Cisplatin

7.2.2 Nebenwirkungen der Radiochemotherapie

Von den n=82 Patienten, die einer kombinierten Radiochemotherapie unterzogen wurden, erlitten 64,6% therapieassoziierte Nebenwirkungen. Strahlenassoziierte Nebenwirkungen traten von n=84 Patienten in 57,1% der Fälle auf. Am häufigsten traten anale Epitheliolysen auf (46,4%) sowie inguinale Epitheliolysen (10,7%) und eine Strahlenproktitis (10,7%). Bei n=6 (7,1%) trat eine Kolitis mit Diarrhoe auf, wobei bei n=1 Patienten aufgrund einer schweren Proktokolitis ein Kolostoma angelegt wurde. N=5 Patienten hatten eine Strahlendermatitis und n=2 berichteten von abdominellen Schmerzen während der Radiotherapie. Weitere geschlechterspezifische Nebenwirkungen waren Epididymitis, Vulvitis sowie vaginale Epitheliolysen (s. Tabelle 8). Je nach Bestrahlungsdosis (n=27 50-54 Gy vs. n=53 >54 Gy) zeigte sich bei höherer Dosis kein vermehrtes Auftreten von Nebenwirkungen. Von n=80 Patienten mit erfolgter RT zeigte sich im Gegenteil ein vermehrtes Auftreten von RT-assoziierten Nebenwirkungen in der Gruppe mit niedrigerer Bestrahlungsdosis zwischen 50-54 Gy (74,1% vs. 49,1% bei >54 Gy) mit einem signifikanten statistischen Unterschied (p=0,032, Chi-Quadrat-Test). Bei diesem Vergleich wurde der Patient mit einer abbruchbedingten Bestrahlungsdosis von nur 36 Gy aus der Analyse ausgeschlossen.

Tabelle 8: Nebenwirkungen der Radiotherapie

| | N (%) |
|--------------------------------|--------------|
| RT erhalten | 84/125 |
| Epitheliolysen anal | 39 (46,4%) |
| Epitheliolysen inguinal | 9 (10,7%) |

| | |
|-------------------------------|-----------|
| Proktitis | 9 (10,7%) |
| Diarrhoe/Kolitis | 6 (7,1%) |
| Dermatitis | 5 (6%) |
| Abdominelle Schmerzen | 2 (2,4%) |
| Epitheliolysen vaginal | 2 (2,4%) |
| Epididymitis | 1 (1,2%) |
| Vulvitis | 1 (1,2%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; RT=Radiotherapie

Nebenwirkungen im Rahmen der Chemotherapie traten in 18% der n=83 Fälle auf. Am häufigsten kam es zu hämatotoxischen Nebenwirkungen (Gesamt=16,8%) mit Leukopenie (8,4%), Thrombopenie (6%), Anämie (1,2%) und neutropenem Fieber (1,2%). Zu gastrointestinalen Nebenwirkungen kam es in 10,8% der Fälle in Form einer oralen Mukositis (6%), Diarrhoe (2,4%), aber auch Übelkeit oder eine orale Candidose traten vereinzelt auf. Ein Patient erlitt eine schwere Exazerbation einer Psoriasis unter der Chemotherapie (s. Tabelle 9). Es gab keinen signifikanten Unterschied im Auftreten von Nebenwirkungen im Rahmen der Radiochemotherapie zwischen Patienten mit positiven und negativen HIV-Status (p=0,309, Chi-Quadrat-Test).

Tabelle 9: Nebenwirkungen der Chemotherapie

| | N (%) |
|-------------------------------------|--------------|
| Cht erhalten | 83/125 |
| Leukozytopenie | 7 (8,4%) |
| Thrombozytopenie | 5 (6%) |
| Anämie | 1 (1,2%) |
| Neutropenes Fieber | 1 (1,2%) |
| Orale Mukositis | 5 (6%) |
| Diarrhoe | 2 (2,4%) |
| Übelkeit | 1 (1,2%) |
| Mundsoor | 1 (1,2%) |
| Exazerbation einer Psoriasis | 1 (1,2%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; Cht=Chemotherapie

7.2.3 Komplikationen durch Operation oder Resektion

Von n=37 Patienten, die im Rahmen der Primärtherapie einer Resektion/Operation zugeführt wurden, haben n=7 (18,9%) akute oder chronische Komplikationen erlitten. Nach R0-Resektion kam es bei einem der n=22 Patienten zu einer respiratorischen

Insuffizienz, bei einem Patienten zu bleibender Stuhlinkontinenz und eine Patientin hatte postoperativ eine rektovaginale Fistel. Bei einem der n=2 Patienten, die initial eine APR mit Descendostoma erhielten, kam es postoperativ zu einem Delir und ein Patient litt nach transanaler Erweiterungsplastik unter einer Stuhlinkontinenz. N=2 Patienten wurden vor RChT mit einem Descendostoma versorgt, davon entwickelte n=1 Patient eine Kolonstenose und n=1 Patient eine Stomaretraktion. Bei den n=6 Patienten, welche vor RChT ein Sigmoidostoma erhielten, wurden keine postoperativen Komplikationen berichtet (s. Tabelle 10).

Tabelle 10: Komplikationen durch Operation/Resektion

| OP | N | Auftreten | Komplikation |
|---|----|-------------------|--|
| R0-Resektion | 22 | Akut Chronisch | Respiratorische Insuffizienz (1) Stuhlinkontinenz (1) Rektovaginale Fistel (1) |
| Descendostoma | 2 | Chronisch | Kolonstenose (1) Stomaretraktion (1) |
| Sigmoidostoma | 6 | - | - |
| APR + Descendostoma + transanale Erweiterungsplastik | 7 | Akut Chronisch | Delir (1) Stuhlinkontinenz (1) |
| Gesamt | 37 | | 7 (18,9%) |

OP=Operation; APR=Abdominoperineale Rektumexstirpation

7.2.4 HPV-Status

Der HPV-Status war nach Aktendurchsicht und anschließender HPV-Testung durch Massenspektrometrie für n=87 Patienten bekannt. Von denen konnten bei n=76 (87,35%) HPV nachgewiesen werden, wobei 42,52% der Frauen und 44,82% der Männer HPV-positiv waren. Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern ($p=0,444$, Chi-Quadrat-Test). Bei n=48 (63,2%) konnte ein HPV-Subtyp, bei n=18 (23,7%) zwei HPV-Subtypen, bei n=8 (10,5%) drei HPV-Subtypen und bei jeweils einem Patienten vier und fünf HPV-Subtypen nachgewiesen werden. Bei positivem HPV-Status handelte es sich in n=74 (85%) Fällen um HR-HPV und in n=11 (12,6%) Fällen um LR-HPV. Sowohl HR-HPV als auch LR-HPV waren in n=9 (10,3%) Präparaten nachweisbar. Die HPV-Testung fiel in n=11 (12,64%) Fällen negativ aus.

Alle HIV-positiven Patienten mit bekanntem HPV-Status waren HPV-positiv (s. Tabelle 11).

Tabelle 11: HPV-Status

| HPV-Status | N (%) |
|-------------------------|------------|
| Gesamt | 87/125 |
| HPV positiv | 76 (87,4%) |
| 1 HPV | 48 (63,2%) |
| 2 HPV | 18 (23,7%) |
| 3 HPV | 8 (10,5%) |
| 4 HPV | 1 (1,3%) |
| 5 HPV | 1 (1,3%) |
| HR-HPV positiv | 74 (85%) |
| LR-HPV positiv | 11 (12,6%) |
| HR-HPV + LR-HPV positiv | 9 (10,3%) |
| HPV negativ | 11 (12,6%) |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden; HPV=humanes Papillomvirus, LR-HPV= low-risk HPV-Subtypen, HR-HPV= high-risk HPV-Subtypen

Die HPV-Subtypen wurden anhand des IARC-Klassifikationssystems in HR-HPV und deren Untergruppen und LR-HPV unterteilt. Von den HR-HPV-Subtypen wurden meist karzinogene Subtypen detektiert und davon am häufigsten HPV-16 (86,8%), mit Abstand gefolgt von HPV-33 (11,8%), HPV-6 (11,8%) und HPV-18 (7,9%) (s. Tabelle 12).

Tabelle 12: HPV-Subtypen - Klassifikation nach IARC

| HPV-Klassifikation | HPV-Subtyp | N (%) |
|--------------------|------------|------------|
| Gesamt | | 76/125 |
| HR-HPV | | |
| karzinogen | 16 | 66 (86,8%) |
| | 18 | 6 (7,9%) |
| | 31 | 3 (3,9%) |
| | 33 | 9 (11,8%) |
| | 35 | 1 (1,3%) |
| | 39 | 2 (2,6%) |
| | 45 | 2 (2,6%) |
| | 51 | 3 (3,9%) |
| | 52 | 1 (1,3%) |
| | 56 | 2 (2,6%) |

| | | |
|---------------------------|----|-----------|
| | 58 | 3 (3,9%) |
| | 59 | 2 (2,6%) |
| wahrscheinlich karzinogen | 68 | 2 (2,6%) |
| möglicherweise karzinogen | 53 | 2 (2,6%) |
| | 66 | 1 (1,3%) |
| | 73 | 1 (1,3%) |
| LR-HPV | 11 | 2 (2,6%) |
| | 6 | 9 (11,8%) |

Abweichungen zu 125: nur HPV-positive Patienten: IARC=international agency for research on cancer; HPV=humanes Papillomvirus; HR-HPV= high risk HPV; LR-HPV= low-risk HPV

7.3 Gesamtüberleben

Die 5-Jahres-Überlebensfunktion wurde mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode berechnet. Bei n=86 Patienten, bei denen ein Follow-up von 5 Jahren vorhanden war, lagen 13 sicher eingetretene Ereignisse vor (15,1%, Todesdatum bekannt, Status 1).

Bei den Todesfällen ist bei n=12 Patienten ein Tod durch Tumorprogress bekannt und ein Patient hatte eine andere Todesursache. Die mittlere Überlebenszeit lag bei 54,4 Monaten (95%-KI 51,116; 57,675). Die kürzeste Überlebenszeit betrug 2 Monate nach Radiochemotherapie, die längste Überlebenszeit ≥ 60 Monate (Abbildung 1).

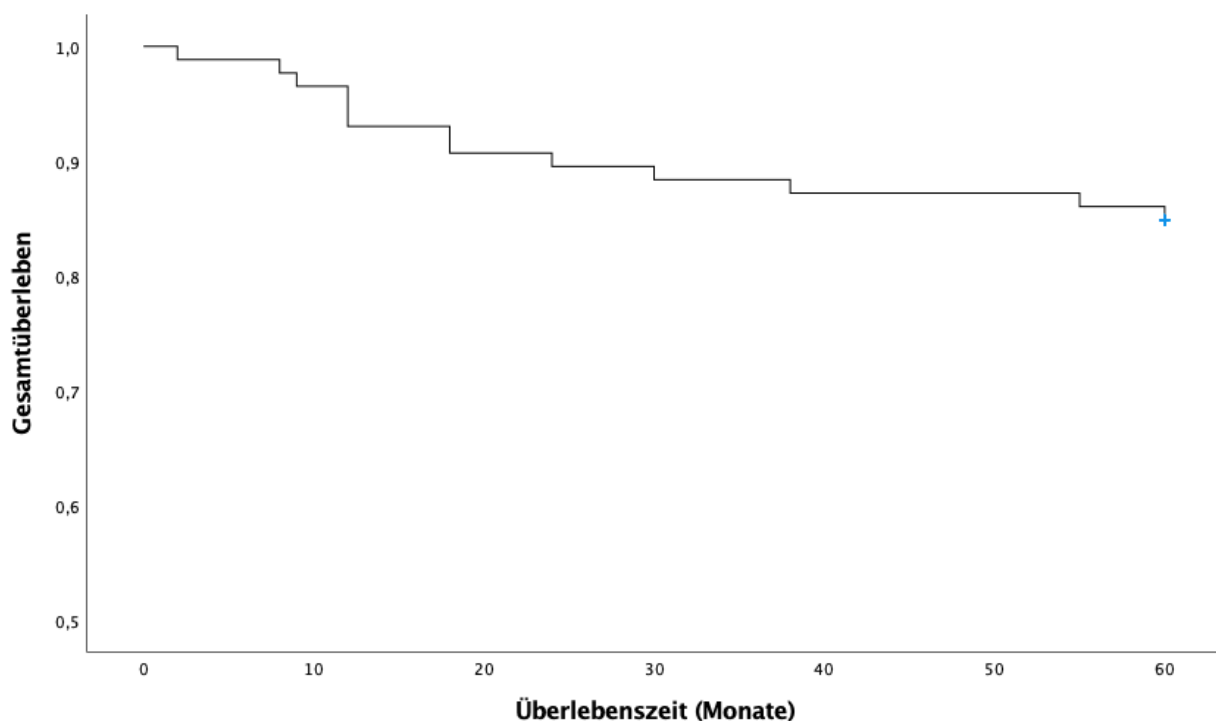


Abbildung 1: Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier

7.4 Progressionsfreies Überleben

Von n=90 Patienten konnten Daten zu Tumorpersistenz und Rezidiven nach Abschluss der Primärtherapie innerhalb 5 Jahren nach Erstdiagnose erhoben werden. Es hatten n=5 (5,6%) Patienten weiterhin einen persistierenden analen Tumor und bei n=5 (5,6%) Patienten kam es zu einem Lokalrezidiv nach einer medianen Zeitspanne von 36 Monaten. Bei simultan vorliegenden Lymphknotenmetastasen (n=3, 3,3%) trat das Rezidiv nach einer medianen Zeitspanne von 12 Monaten auf und bei Lokalrezidiv mit Fernmetastasen (n=1, 1,1%) nach einer medianen Zeit von 9 Monaten. Eine alleinige lymphogene Metastasierung trat bei n=3 (3,3%) Patienten auf nach einer medianen Zeitspanne von 12 Monaten. Zu einer Fernmetastasierung kam es bei n=3 (3,3%) Patienten nach einer medianen Zeitspanne von 12 Monaten. Daraus lässt sich schließen, dass Rezidive meist schon im ersten Jahr und eher lokal rezidiert und lymphogen metastasiert auftreten (s. Tabelle 13).

Tabelle 13: Rezidivrate und Zeitspanne bis zum Eintritt

| Rezidivlokalisierung | N (%) | Mittlere Zeitspanne (Monate) | Mediane Zeitspanne (Monate) |
|-------------------------------------|----------|------------------------------|-----------------------------|
| Gesamt | 90/125 | | |
| Persistierender analer Tumor | 5 (5,6%) | | |
| Lokalrezidiv | 5 (5,6%) | 33,6 | 36 |
| + LK-Metastasen | 3 (3,3%) | 16 | 12 |
| + Fernmetastasen | 1 (1,1%) | 9 | 9 |
| Lymphogene Metastasen | 3 (3,3%) | 12 | 12 |
| Fernmetastasen | 3 (3,3%) | 15 | 12 |
| Rezidivrate | 27 (30%) | | |

Abweichungen zu 125: Daten zum Rest nicht vorhanden

Das progressionsfreie Überleben (PFS = progression free survival) wurde ebenfalls mit Kaplan-Meier dargestellt. Bei n=90 Patienten lagen 27 sicher eingetretene Ereignisse vor (30%, Rezidivdatum bekannt, Status 1) und n=64 Patienten waren nach 5 Jahren tumorfrei (Status 0). Das mittlere PFS lag bei 48,5 Monaten (95%-KI 44,26; 52,76). Das kürzeste PFS lag bei 2 Monaten und das längste PFS bei ≥60 Monaten.

7.5 Überlebenszeitanalysen nach Geschlecht

Ein Vergleich des mittleren Gesamtüberlebens zwischen Frauen (n=39; 57,7 Monate, 95%-KI 53,94; 61,53) und Männern (n=47; 51,61 Monate, 95%-KI 46,59; 56,64) ergab

einen kleinen Unterschied ohne statistische Signifikanz ($p=0,08$, Log Rank-Test) und ist in Abbildung 2 dargestellt. Auch bezüglich der Zeit bis zu einem Tumorprogress in Form eines Rezidivs, Metastasen oder Tod gab es in Abhängigkeit vom Geschlecht (Frauen $n=41$, 50,3 Monate; Männer $n=49$, 47 Monate) keinen signifikanten Unterschied ($p=0,485$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 3).

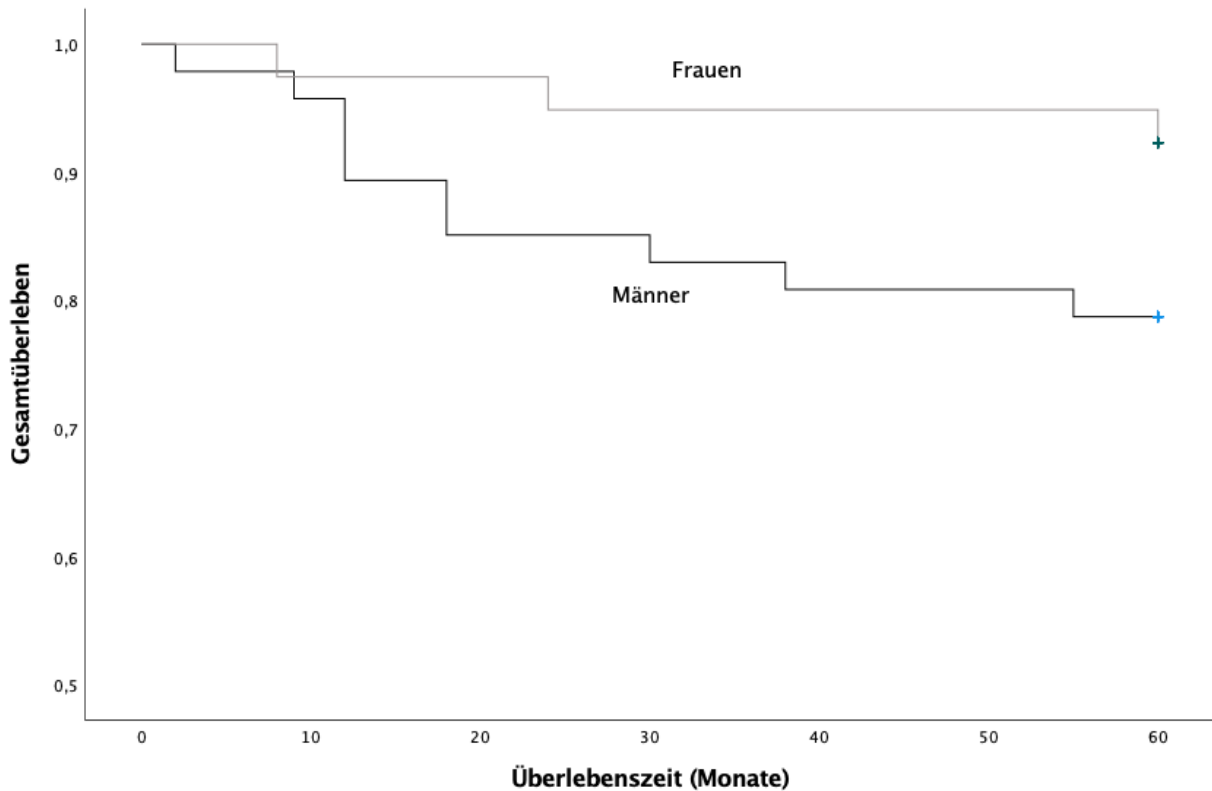


Abbildung 2: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom Geschlecht nach Kaplan-Meier

$p=0,08$ (Log Rank-Test)

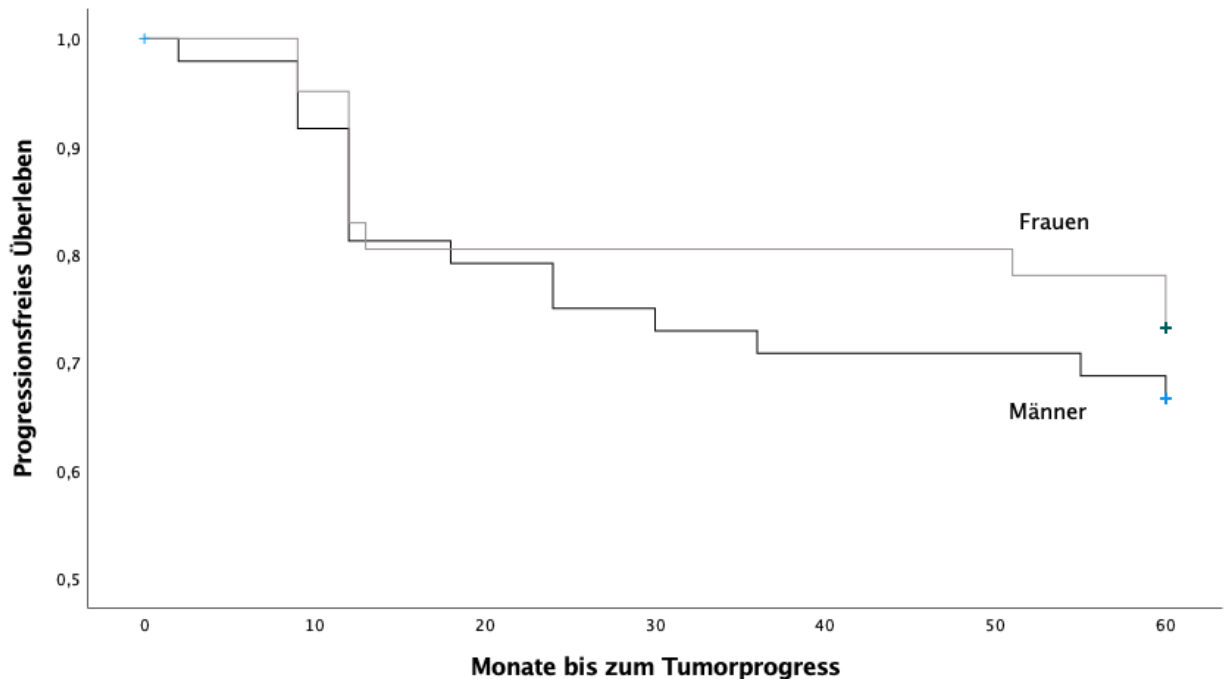


Abbildung 3: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom Geschlecht nach Kaplan-Meier

$p=0,485$ (Log Rank-Test)

7.6 Überlebenszeitanalysen nach Tumorlokalisierung

Die Überlebensraten in Abhängigkeit vom Tumorsitz im Analkanal ($n=67$) oder am Analrand ($n=19$) zeigten in Bezug auf das Gesamtüberleben keinen signifikanten Unterschied ($p=0,467$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 4).

Der Vergleich des PFS ergab bei Analkanalkarzinomen ($n=70$, 48,81 Monate, 95%-KI 43,97; 53,65) im Vergleich zu Analrandkarzinomen ($n=20$, 47,42 Monate, 95%-KI 37,86; 56,98) ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p=0,260$, Log Rank-Test) (s.

Abbildung

5)

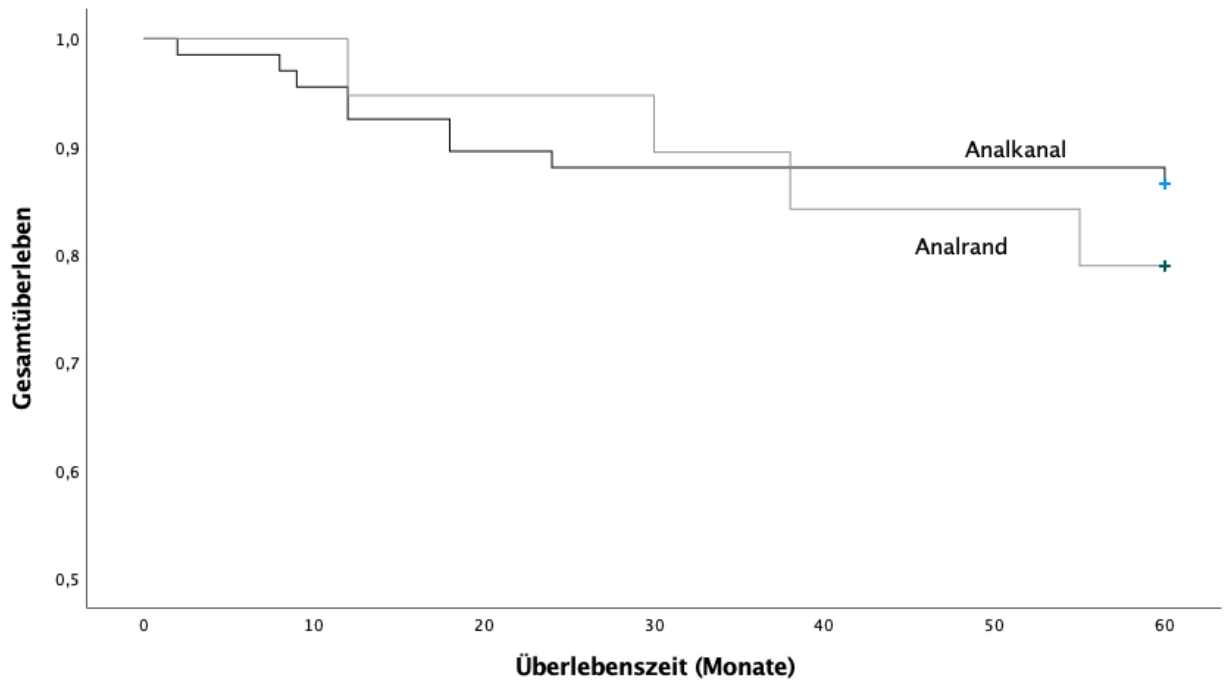


Abbildung 4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation nach Kaplan-Meier

$p=0,467$ (Log Rank-Test)

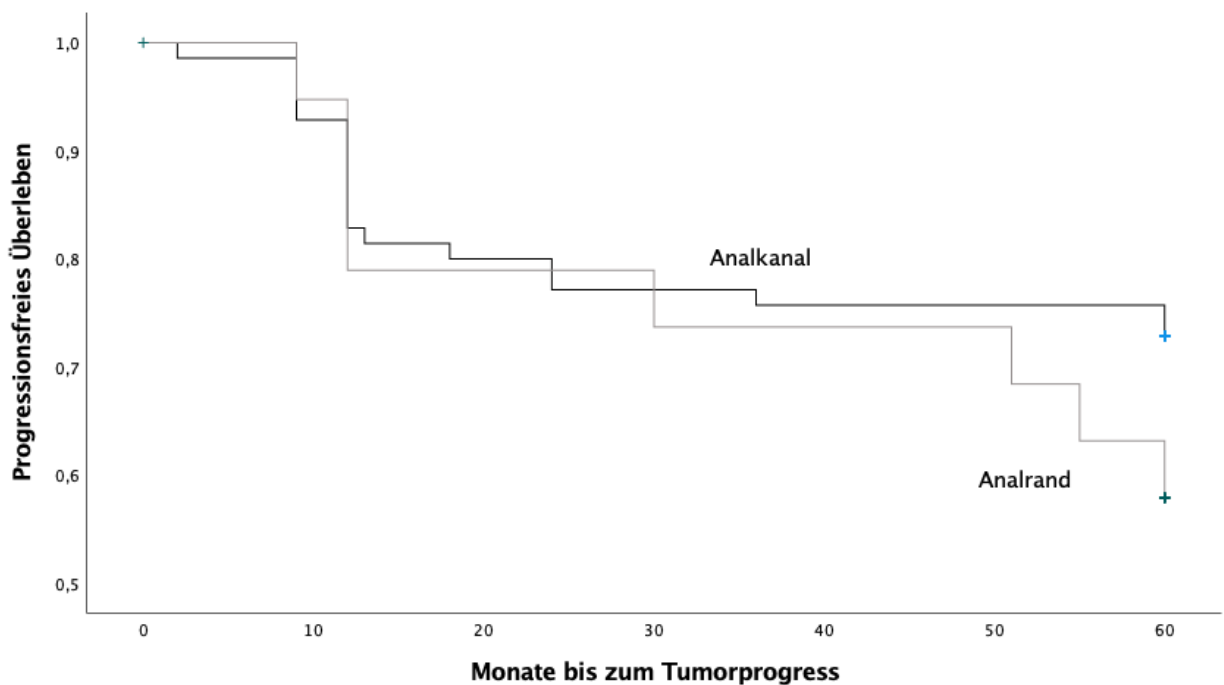


Abbildung 5: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation nach Kaplan-Meier

$p=0,260$ (Log Rank-Test)

7.7 Überlebenszeitanalyse nach Tumorausdehnung

Anhand der Tumorausdehnung in Steinschnittlage wurden die Patienten je nach zirkumferenzieller Ausdehnung des Tumors eingeteilt. Dabei nahm der Tumor bei n=64 Patienten bis zu 1/3 der Zirkumferenz ein und bei n=20 Patienten >1/3 der Zirkumferenz. Das mittlere OS in der Gruppe Tumor >1/3 der Zirkumferenz lag bei 49,55 Monaten (95%-KI 41,27; 57,82) und bei Tumoren mit einer Tumorausdehnung \leq 1/3 der Zirkumferenz bei 55,73 (95%-KI 52,24; 59,22). Dieser Unterschied war in der statistischen Analyse nicht signifikant ($p=0,158$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 6)

Die mittlere PFS bei einer Tumorausdehnung \leq 1/3 der Zirkumferenz (n=67) lag bei 49,63 Monaten (95%-KI 44,89; 54,37) und bei einer Tumorausdehnung >1/3 (n=20) der Zirkumferenz bei 45,65 Monaten (95%-KI 35,35; 55,94). Die Unterschiede im PFS waren statistisch nicht signifikant ($p=0,277$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 7).

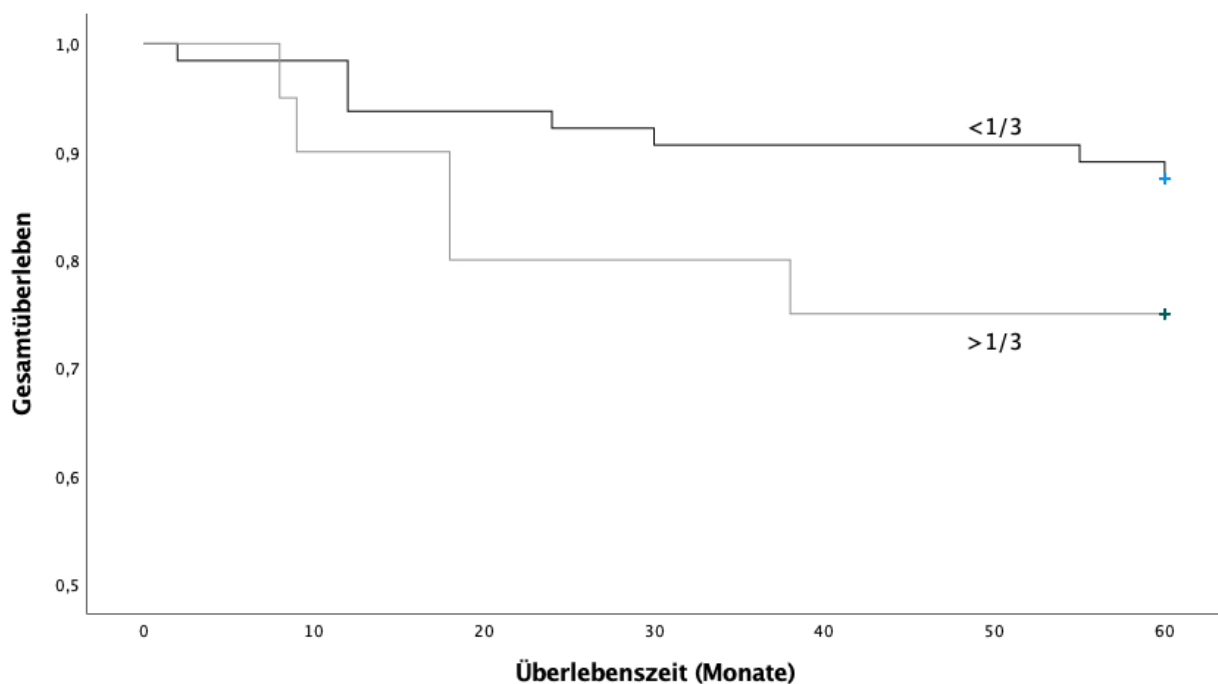


Abbildung 6: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung
 $p=0,158$ (Log Rank-Test)

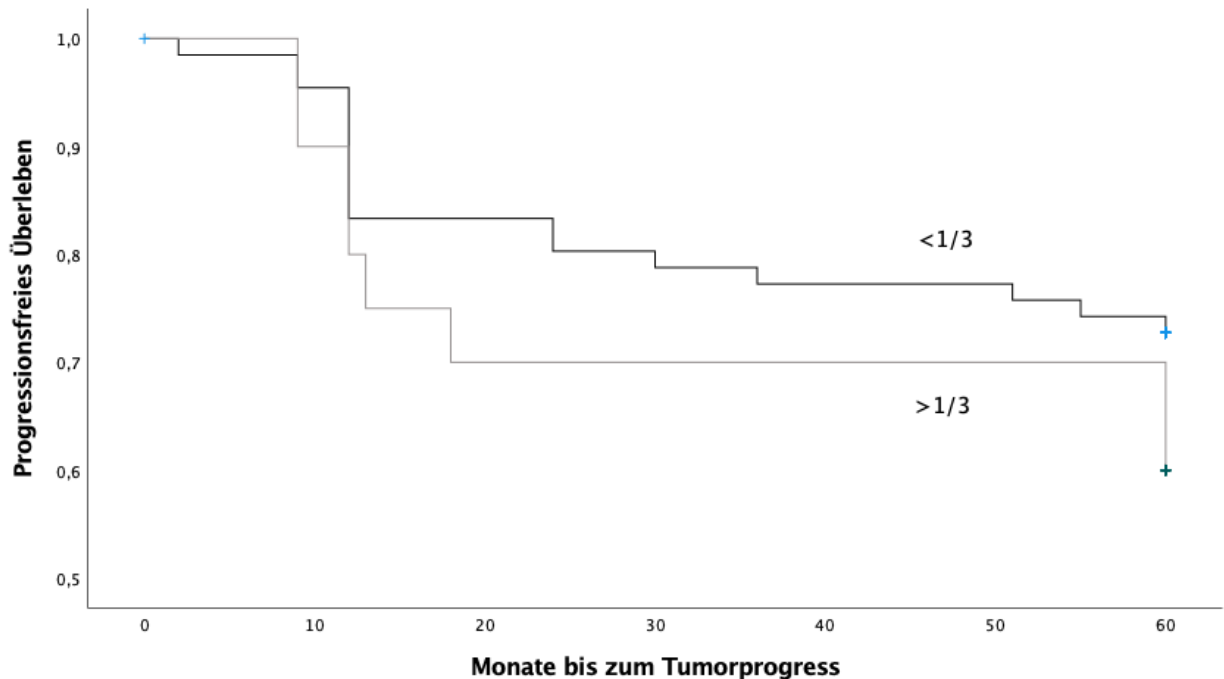


Abbildung 7: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung
 $p=0,277$ (Log Rank-Test)

7.8 Überlebenszeitanalysen nach Alter

Zur Analyse der Überlebensraten nach Alter bei Erstdiagnose wurden die Patienten in die Gruppen <65 Jahre ($n=65$) und >65 Jahre ($n=21$) eingeteilt. Das Gesamtüberleben bei <65 Jahren lag bei 55,03 Monaten (95%-KI 51,69; 58,36) und bei Alter >65 Jahren bei 52,42 Monaten (95%-KI 43,82; 61,02). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p=0,203$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 8).

Das mittlere PFS lag bei den Patienten <65 Jahren ($n=68$) bei 48,59 Monaten (95%-KI 43,75; 53,43) und bei Patienten >65 Jahre bei 48,27 Monaten (95%-KI 38,8; 57,73),). Die Unterschiede waren ohne statistische Signifikanz ($p=0,501$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 9).

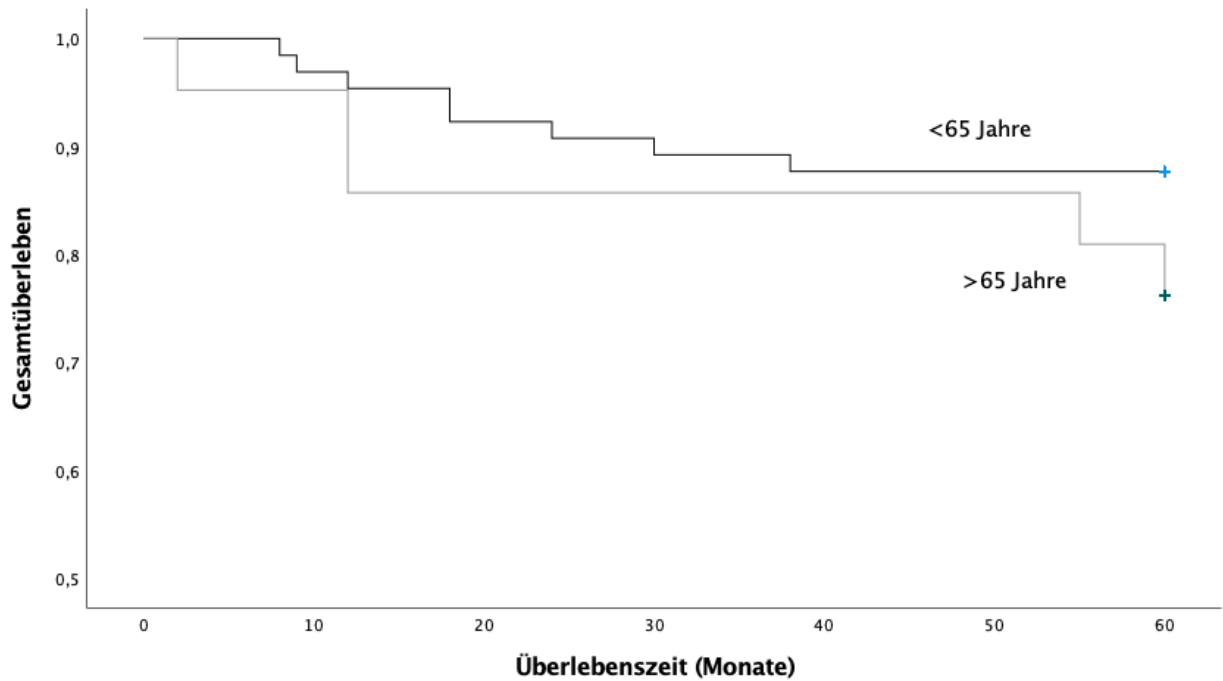


Abbildung 8: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom Alter nach Kaplan-Meier
 $p=0,203$ (Log Rank-Test)

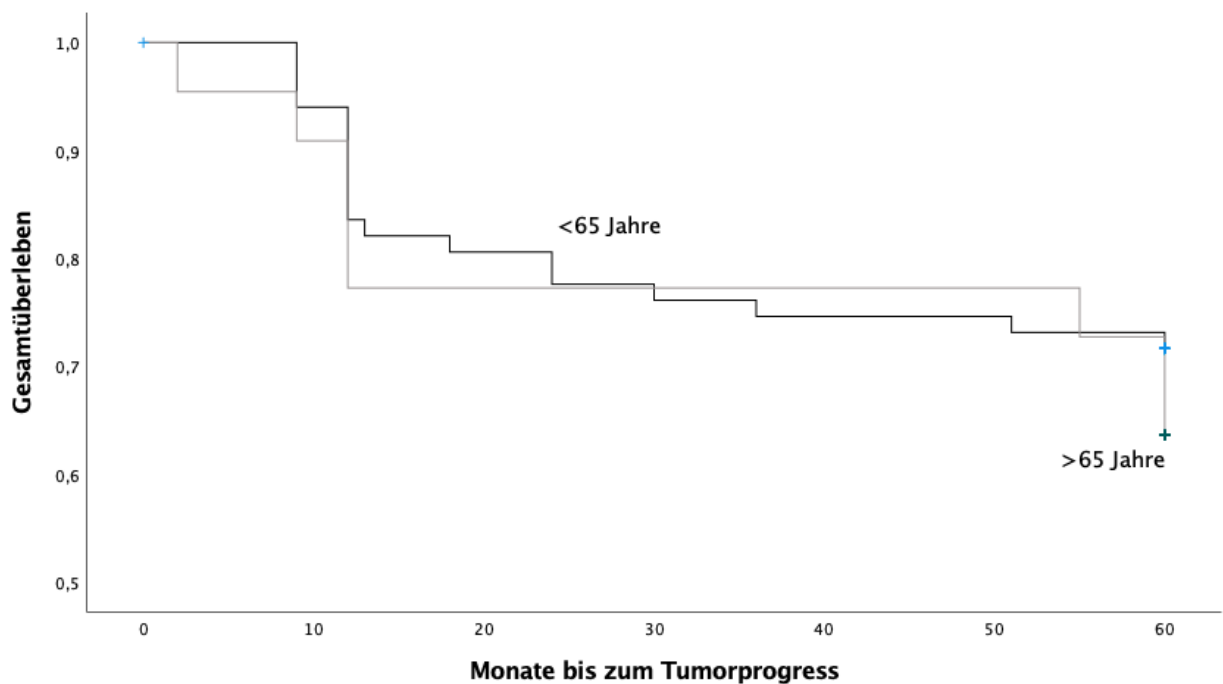


Abbildung 9: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom Alter nach Kaplan-Meier
 $p=0,501$ (Log Rank-Test)

7.9 Überlebenszeitanalysen nach T-Stadium

Das Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom vorliegenden T-Stadium wurde für die Gruppen T1/T2 (n=60) und T3/T4 (n=26) analysiert. Patienten mit T1/2-Tumoren hatten ein signifikant längeres mittleres Gesamtüberleben von 57,25 Monaten (95%-KI 54,38; 60,11) als Patienten mit T3/T4-Tumor (47,8 Monate, 95%-KI 39,87; 55,73) ($p=0,031$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 10).

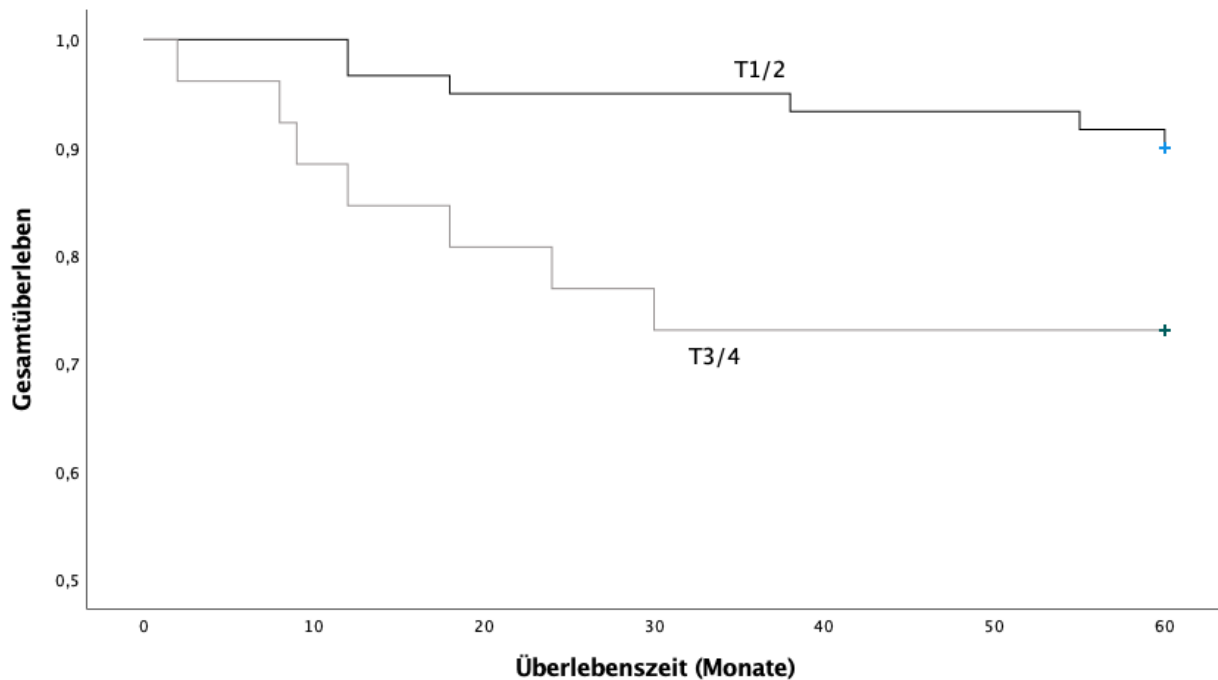


Abbildung 10: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom T-Stadium nach Kaplan-Meier

$p=0,031$ (Log Rank-Test)

In Bezug auf das PFS hatten Patienten mit T1/T2-Tumor (n=63) ein tendenziell längeres mittleres PFS von 51,88 Monaten (95%-KI 47,35; 56,41) als Patienten mit T3/T4-Tumor (n=26) mit einem mittleren PFS von 42 Monaten (95%-KI 33,3; 50,69). Der Unterschied war in der statistischen Analyse jedoch nicht signifikant ($p=0,061$) (s. Abbildung 11).

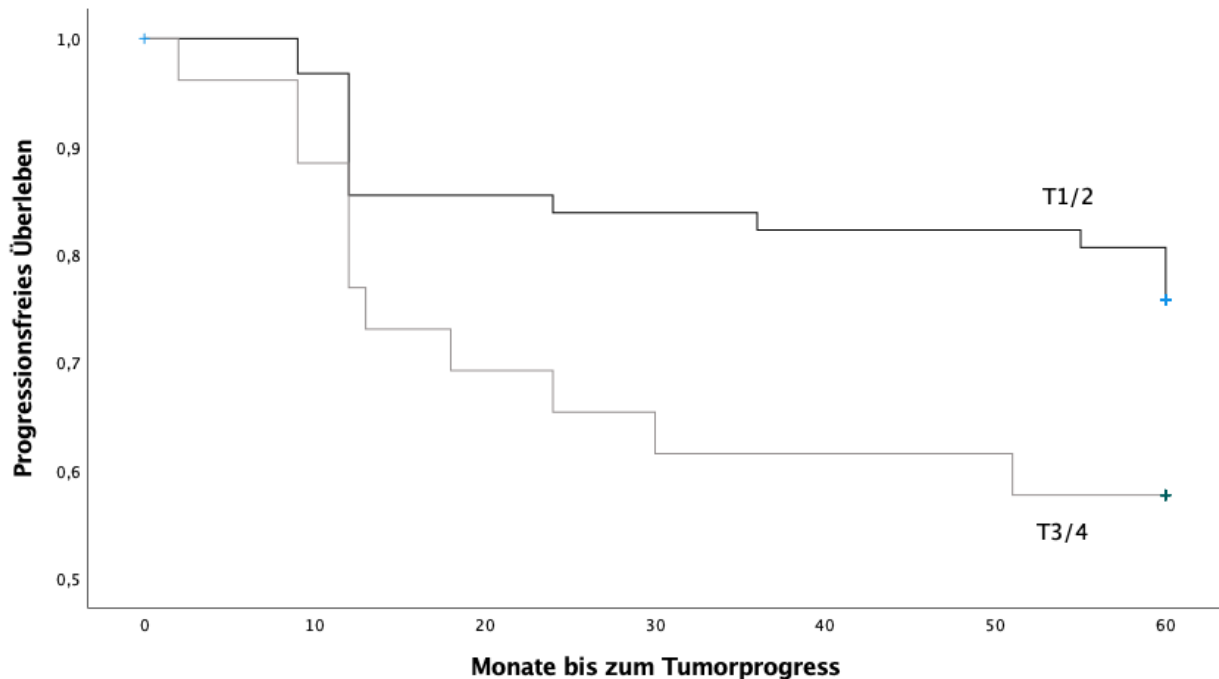


Abbildung 11: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom T-Stadium nach Kaplan-Meier
 $p=0,061$ (Log Rank-Test)

7.10 Überlebenszeitanalysen nach N-Status

In der Analyse des Überlebens abhängig vom Lymphknotenbefall wurden Patienten mit N0-Status ($n=50$) und N1-3-Status ($n=30$) miteinander verglichen. Patienten mit N0-Status hatten ein signifikante längeres Gesamtüberleben mit 57,58 Monaten (95%-KI 54,84; 60,31) als bei vorhandenem Lymphknotenbefall (N+-Status) mit einem mittlerem Gesamtüberleben von 47,96 Monaten (95%-KI 40,28; 55,65) ($p=0,008$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 12).

Zudem wurde das mittlere PFS abhängig vom N-Status verglichen. Dabei zeigte sich ebenfalls ein signifikant längeres PFS bei Patienten mit N0-Status ($n=52$, 54,28 Monate, 95%-KI 49,76; 58,81) und N+-Status ($n=31$, 40,23 Monate, 95%-KI 31,71; 48,75) ($p=0,004$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 13).

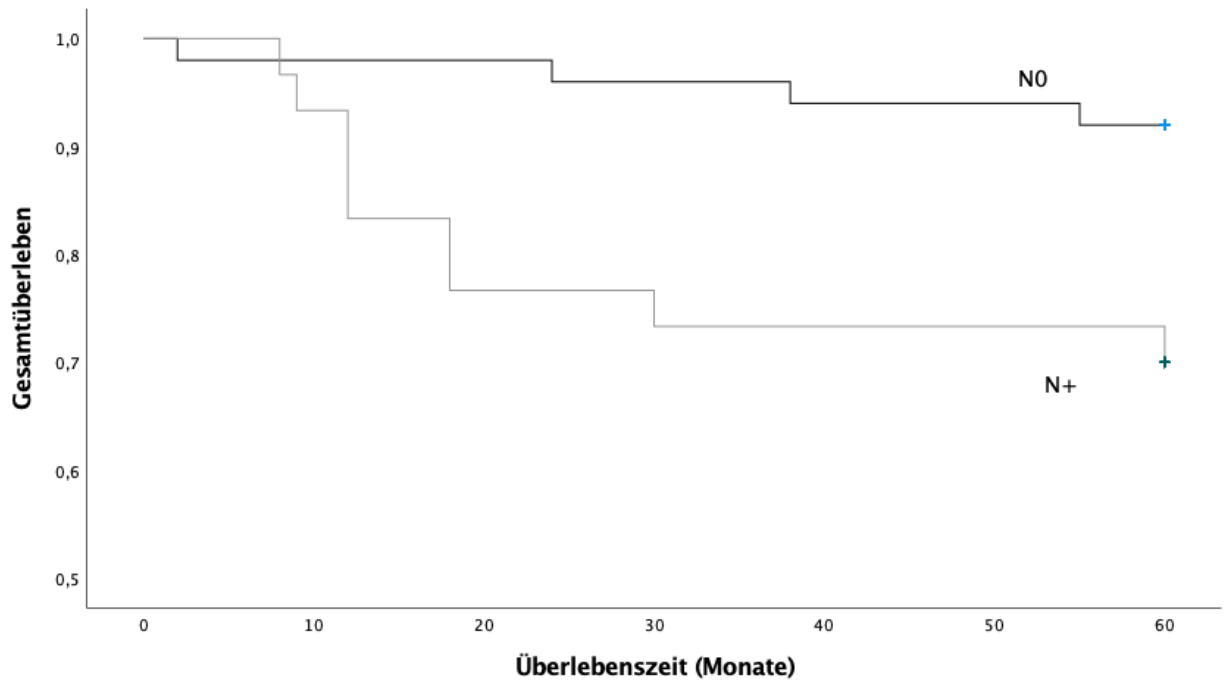


Abbildung 12: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom N-Stadium nach Kaplan-Meier

$p=0,008$ (Log Rank-Test)

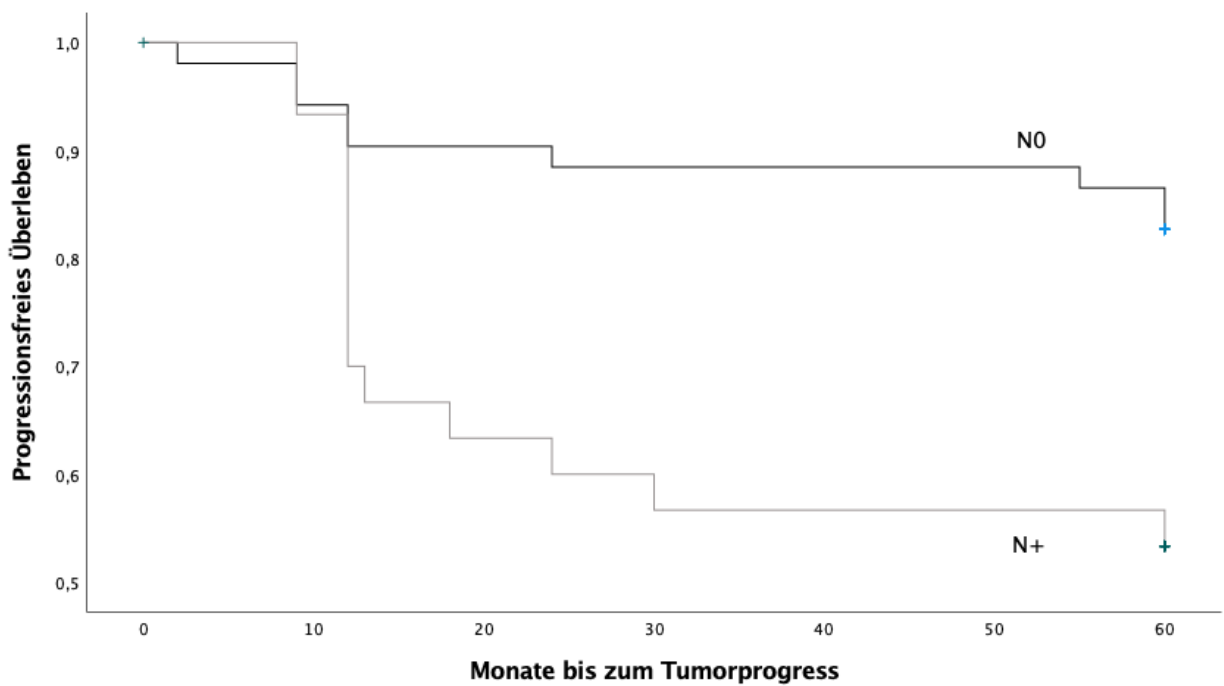


Abbildung 13: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom N-Stadium nach Kaplan-Meier

$p=0,004$ (Log Rank-Test)

7.11 Überlebenszeitanalysen nach M-Stadium

Patienten mit M0-Status (n=83) bei Erstdiagnose hatten ein deutlich signifikant besseres mittleres Gesamtüberleben von 56,02 Monaten (95%-KI 53,22; 58,82) als Patienten mit M1-Status (n=3) (mittleres OS 9,33 Monate, 95%-KI 0,18; 18,48) ($p < 0,001$) (s. Abbildung 14).

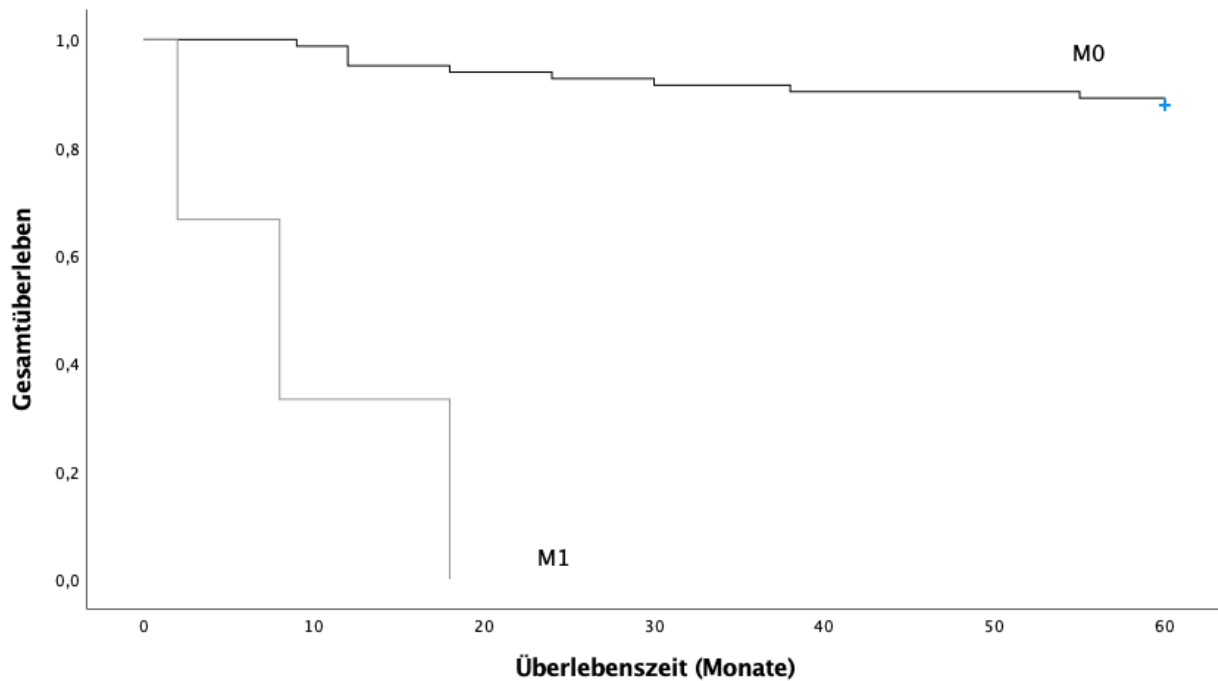


Abbildung 14: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom M-Stadium nach Kaplan-Meier

$P < 0,001$ (Log Rank-Test)

Beim Vergleich des PFS zeigte sich ebenfalls bei M1-Status (n=3) ein signifikant kürzeres progressionsfreies Überleben mit einem PFS von 9 Monaten (95%-KI 2,11; 15,88) im Vergleich zum M0-Status (n=86) mit einem mittleren PFS von 50,37 Monaten (95%-KI 46,34; 54,4) ($p < 0,001$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 15).

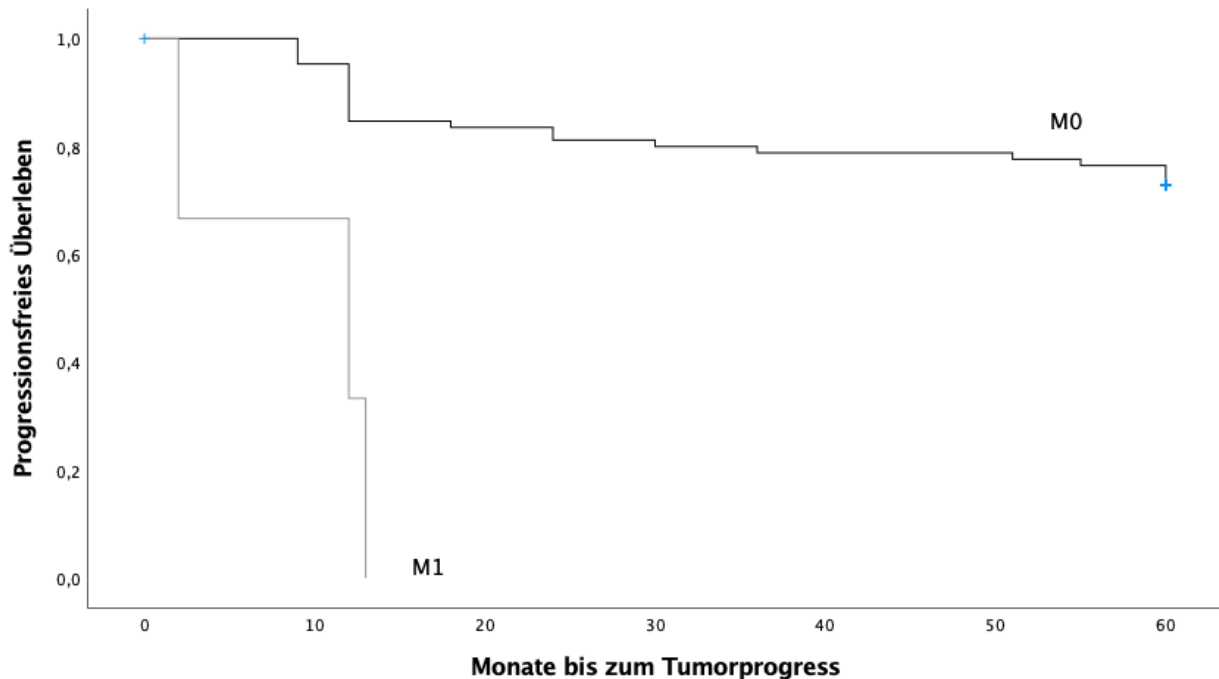


Abbildung 15: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom M-Stadium nach Kaplan-Meier

P<0,001 (Log Rank-Test)

7.12 Überlebenszeitanalysen nach UICC-Stadium

Es kam zu drei Todesfällen bei den Patienten im UICC-Stadium I-II (n=48) mit einer mittleren Überlebenszeit von 58,68 Monaten (95%-KI 56,99; 60,38) und zu zehn Todesfällen bei Patienten im UICC Stadium III-IV (n=32) mit einer mittleren Überlebenszeit von 46,9 Monaten (95%-KI 39,12; 54,68). Der Überlebensvorteil bei niedrigem UICC-Stadium war statistisch signifikant (p=0,002, Log Rank-Test) (Abbildung 16). Auch das mittlere PFS lag bei UICC-Stadium I-II (n=50) bei, 55,22 Monaten (95%-KI 51,03; 59,4) und bei UICC-Stadium III-IV (n=33) bei 39,65 Monaten (95%-KI 31,24; 48,07) und war somit signifikant länger (p=0,002, Log Rank-Test) (s. Abbildung 17).

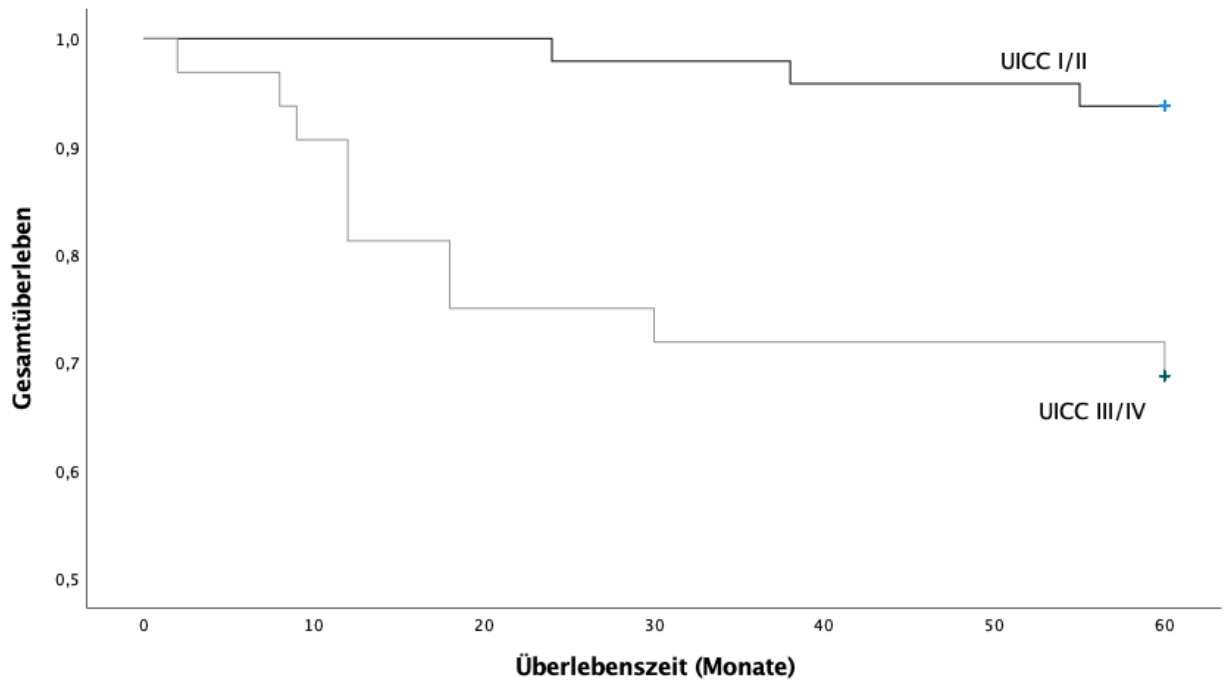


Abbildung 16: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium nach Kaplan-Meier
 $p=0,002$ (Log Rank-Test)

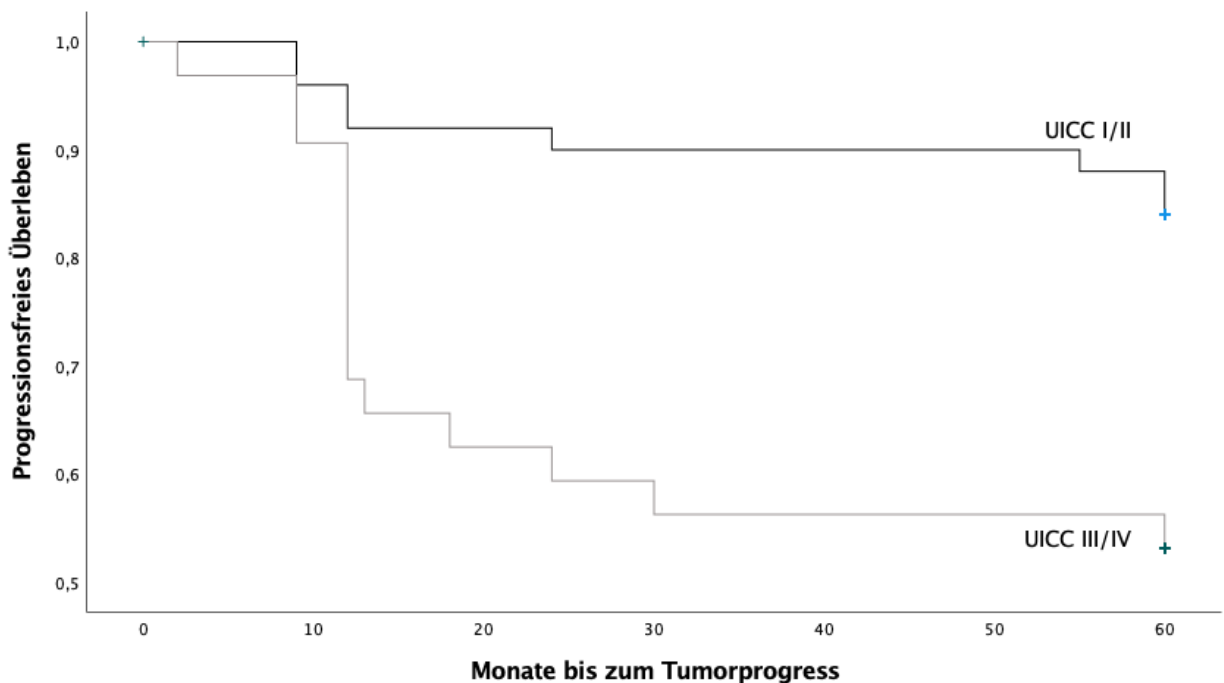


Abbildung 17: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium nach Kaplan-Meier
 $p=0,002$ (Log Rank-Test)

7.13 Überlebenszeitanalysen nach G-Stadium

Die histologischen Differenzierungsgrade des Tumors G1 (n=8), G2 (n=49) und G3 (n=15) zeigten im Hinblick auf das OS keine signifikanten Unterschiede (G1/G2 $p=0,751$; G2/G3 $p=0,683$; G1/G3 $p=0,610$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 18).

Im Vergleich des PFS zeigte sich eine kürzere mittlere PFS bei G3-Status (n=16, 44,87 Monate, 95%-KI 33,87; 55,87) im Vergleich zu G2-Status (n=50, Mittelwert 48,67 Monate, 95%-KI 42,95; 54,39; $p=0,889$, Log Rank-Test) und G1-Status (n=9, Mittelwert von 53,77 Monate, 95%-KI 41,04; 66,50; $p=0,984$, Log Rank-Test), jedoch ohne statistische Signifikanz (s. Abbildung 19).

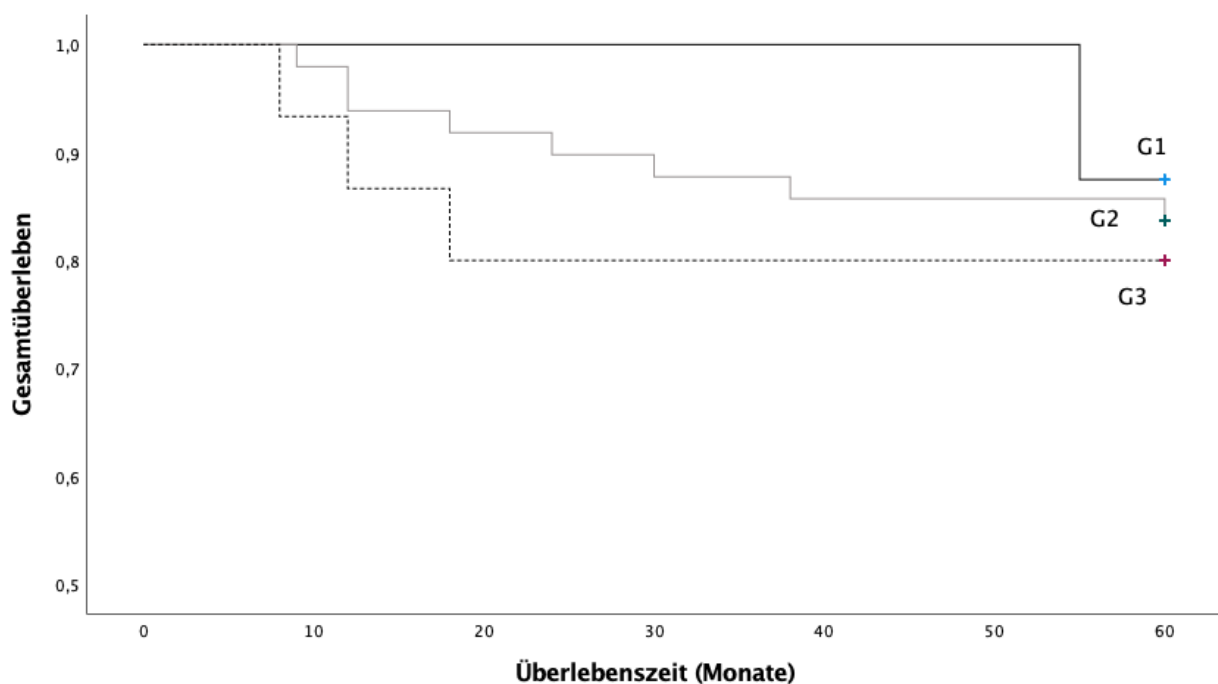


Abbildung 18: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom G-Stadium nach Kaplan-Meier

G1/G2 $p=0,751$; G2/G3 $p=0,683$; G1/G3 $p=0,610$ (Log Rank-Test)

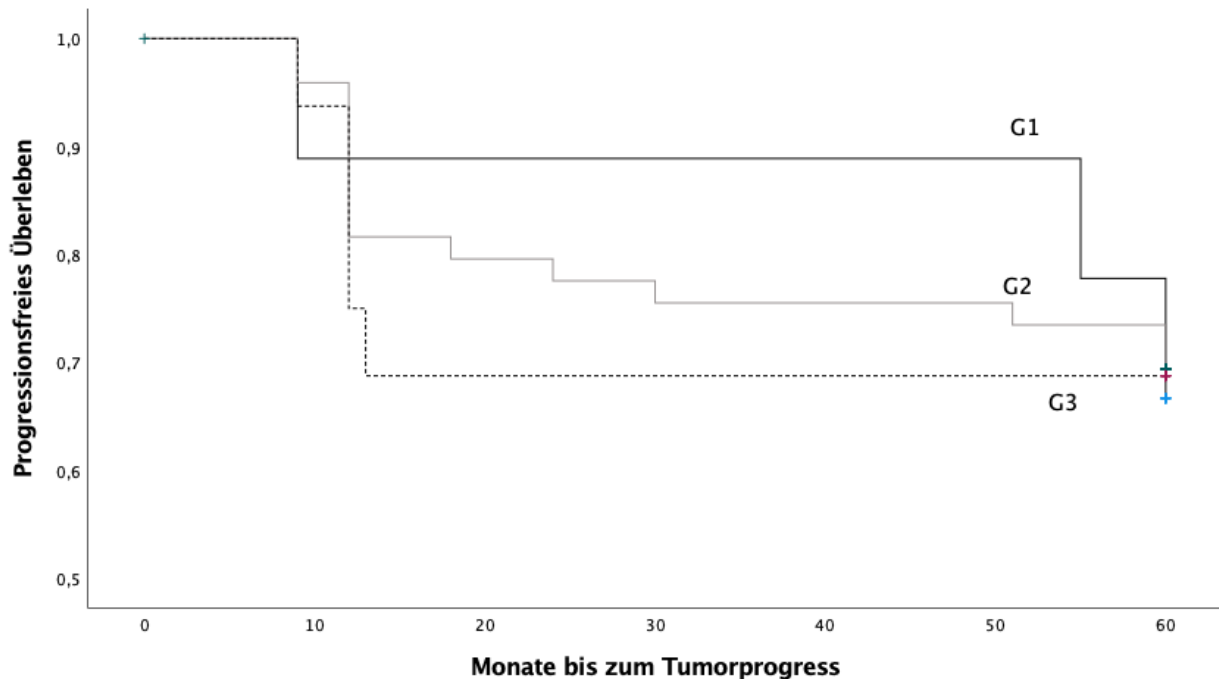


Abbildung 19: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom G-Stadium nach Kaplan-Meier

G1/G2 $p=0,917$; G1/G3 $p=0,984$; G2/G3 $p=0,889$ (Log Rank-Test)

7.14 Subgruppenanalyse Tumorstadium und Lymphknotenstatus

Es wurde eine Subgruppenanalyse zwischen Patienten mit T1-2/N0-Status ($n=41$), T1-2/N+-Status ($n=14$), T3-4/N0-Status ($n=9$) und T3-4/N+-Status ($n=16$) durchgeführt. Dabei zeigte sich ein signifikant besseres OS bei T1-2/N0-Status (59,34 Monate, 95%KI 58,28; 60,4) im Vergleich mit T1-2/N+-Status (50,14 Monate, 95%-KI 38,69; 61,58) ($p=0,011$, Log Rank-Test), sowie im Vergleich zu T3-4/N+-Status (53,97 Monate, 95%-KI 35,69; 56,43) ($p=0,004$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 20).

In Bezug auf das PFS zeigte sich ebenfalls zwischen T1-2/N0-Status ($n=43$, 55,55 Monate, 95%KI 51,16; 59,95) und T1-2/N+-Status ($n=15$, 42,85 Monate, 95%KI 29,65; 56,05) ebenfalls ein signifikanter Unterschied mit besserem PFS bei N0-Status ($p=0,038$, Log Rank-Test) sowie im Vergleich zu T3-4/N+-Status ($n=16$, 37,93 Monate, 95%KI 26,85; 49,02) ($p=0,004$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 21).

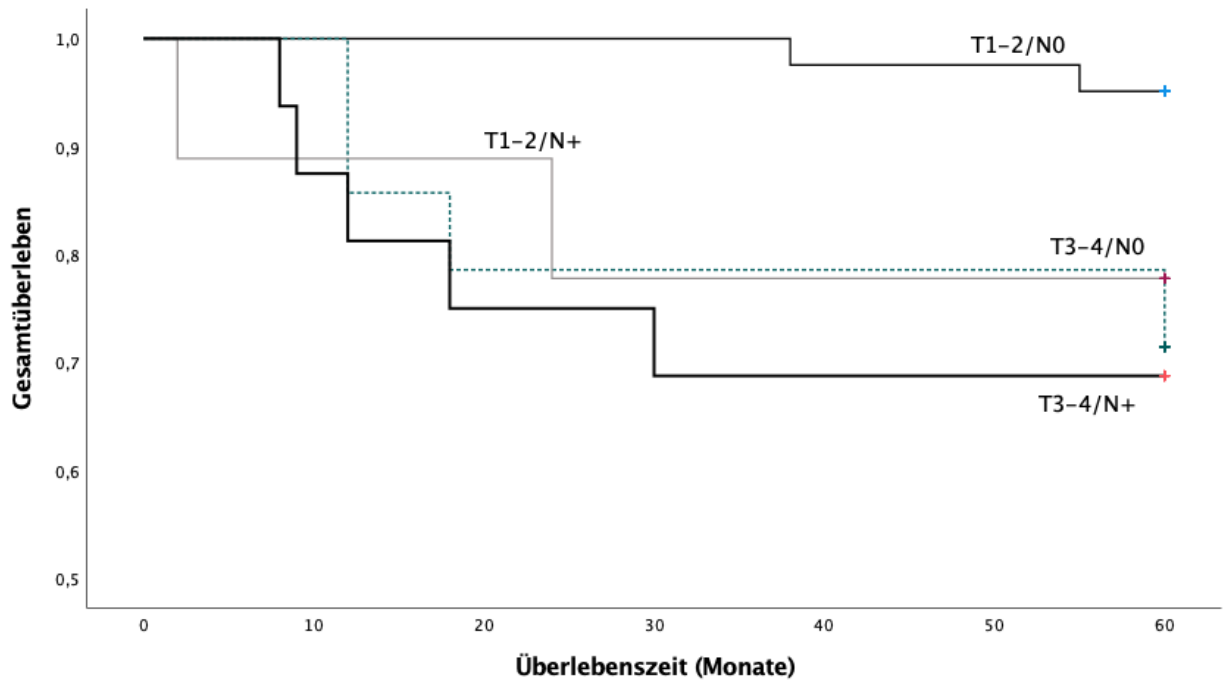


Abbildung 20: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom TN-Stadium nach Kaplan-Meier

T1-2N0/T1-2N+ $p=0,011$; T1-2N0/T3-4N0 $p=0,063$; T1-2N0/T3-4N+ $p=0,004$; T1-2N+/T3-4N0 $p=0,781$;
T1-2N+/T3-4N+ $p=0,792$; T3-4N0/T3-4N+ $p=0,663$ (Log Rank-Test)

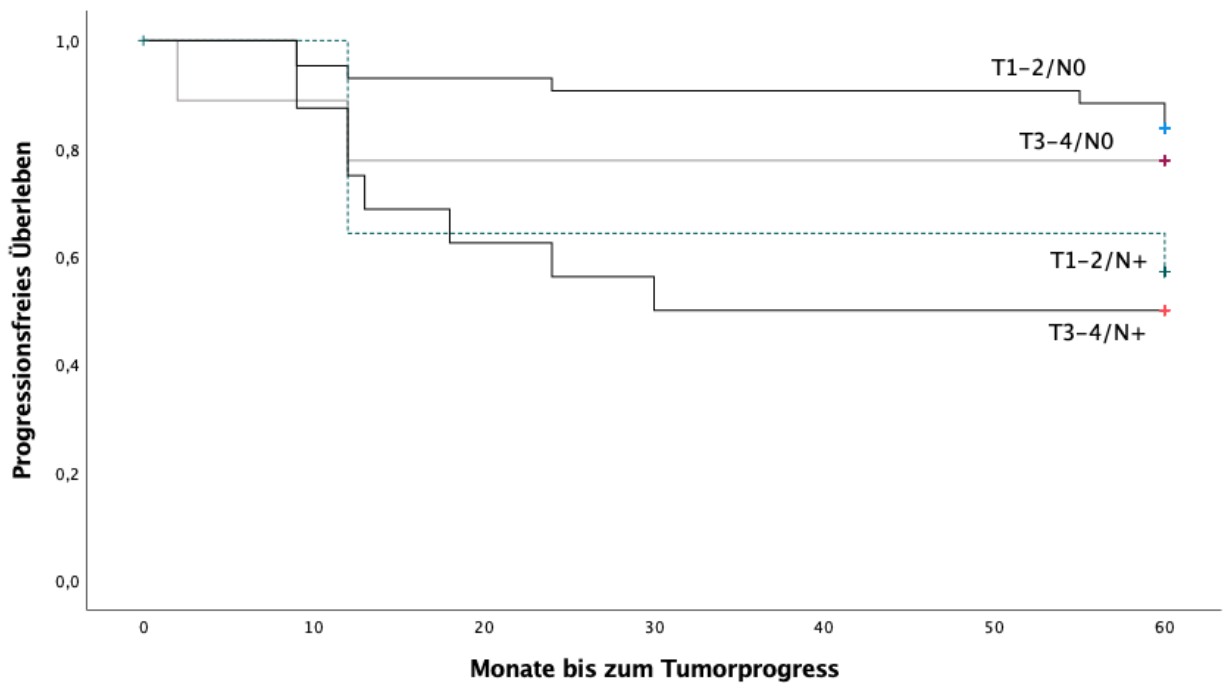


Abbildung 21: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom TN-Stadium nach Kaplan-Meier

T1-2N0/T1-2N+ $p=0,038$; T1-2N0/T3-4N0 $p=0,597$; T1-2N0/T3-4N+ $p=0,004$; T1-2N+/T3-4N0 $p=0,416$;
T1-2N+/T3-4N+ $p=0,643$; T3-4N0/T3-4N+ $p=0,250$ (Log Rank-Test)

7.15 Überlebenszeitanalysen nach Therapie

7.15.1 Radiochemotherapie

Das OS wurde analysiert zwischen Patienten, die als Primärtherapie eine kombinierte RChT erhalten hatten (n=59) und Patienten, bei denen keine kombinierte RChT durchgeführt wurde (n=18). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im OS ($p=0,733$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 22). Das mittlere PFS bei Durchführung einer kombinierten RChT (n=62) lag bei 50,19 Monaten (95%-KI 45,33; 55,05) und war länger als bei nicht erfolgter kombinierter RChT (n=19, Mittelwert 43,26 Monate, 95%-KI 33,23; 53,29). In der statistischen Analyse war dieser Unterschied jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,195$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 23).

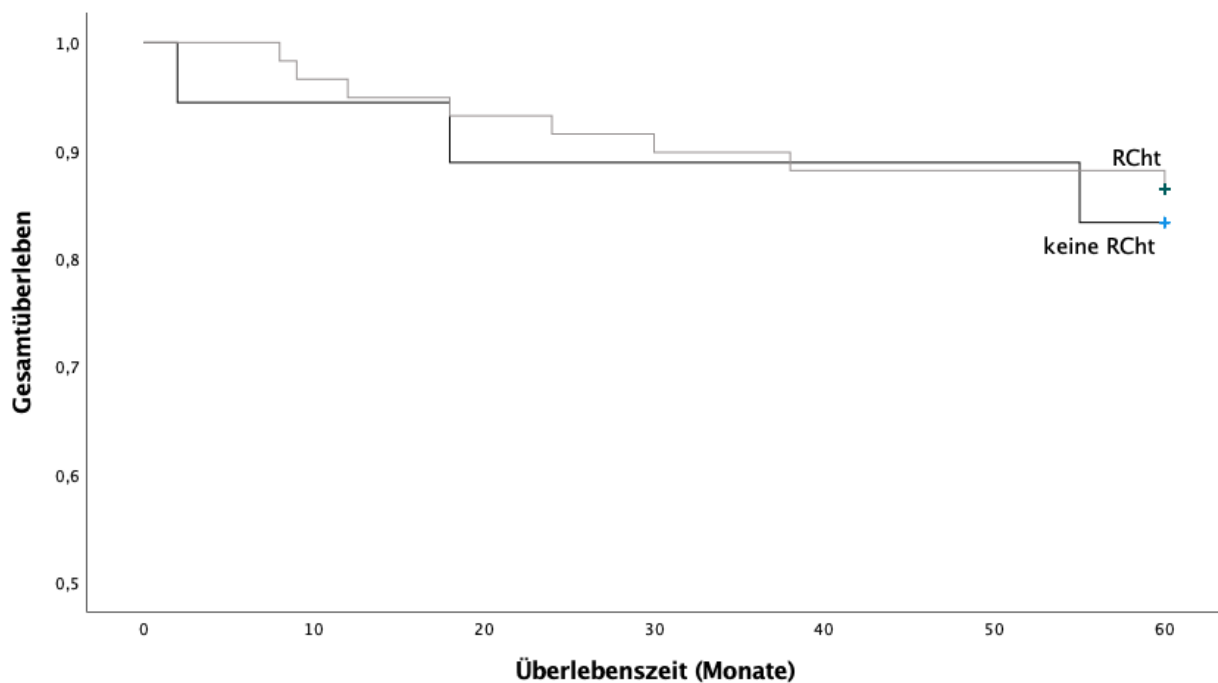


Abbildung 22: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie nach Kaplan-Meier

RChT=Radiochemotherapie; $p=0,733$ (Log Rank-Test)

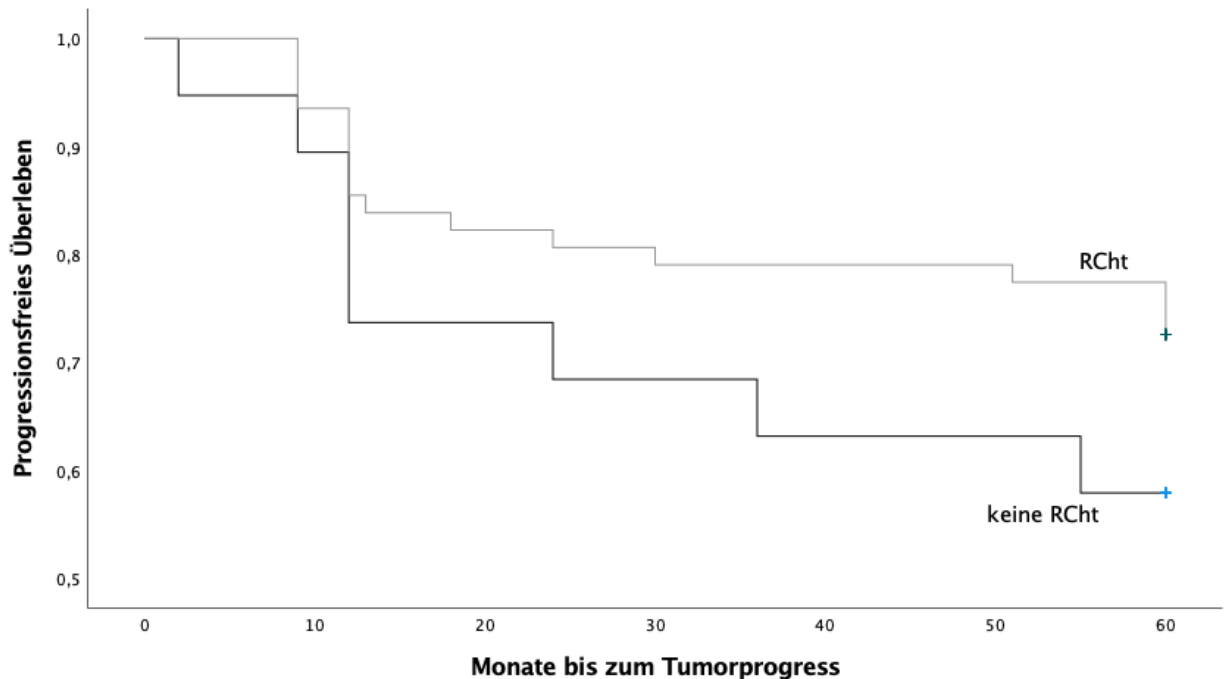


Abbildung 23: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie nach Kaplan-Meier
 Rcht=Radiochemotherapie; $p=0,195$ (Log Rank-Test)

7.15.2 Überlebenszeitanalyse nach Kolostoma-Anlage

Patienten, die vor Rcht ein Kolostoma erhalten haben ($n=7$), zeigte sich ein mittleres Gesamtüberleben von 52,71 Monaten (95%-KI 39,49; 65,93) im Vergleich zu Patienten ohne Kolostoma ($n=70$, 55,21 Monate, 95%-KI 51,84; 58,58). Dieser Unterschied war ohne statistische Signifikanz ($p=0,963$, Log Rank-Test). Das mittlere PFS in der Gruppe mit Kolostoma ($n=7$) lag bei 52,71 Monaten (95%-KI 39,49; 65,93) und bei nicht mit Kolostoma versorgten Patienten ($n=74$) bei 48,17 Monaten (95%-KI 43,48; 52,86). Der Unterschied im PFS war ohne statistische Signifikanz ($p=0,379$, Log Rank-Test).

7.16 Überlebenszeitanalysen nach HIV-Status

HIV-negative Patienten ($n=65$) zeigten gegenüber HIV-positiven Patienten ($n=21$) ein längeres mittleres Überleben von 55,64 Monaten (95%-KI 52,11; 59,17) vs. 50,52 Monate (95%-KI 42,88; 58,16), jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,195$, Log Rank-Test). Beim PFS zeigte sich kein signifikanter Unterschied im PFS zwischen HIV-negativen Patienten ($n=69$, 48,79 Monate, 95%-KI 43,93; 53,66) und HIV-positiven Patienten ($n=21$, 47,55 Monate, 95%-KI 38,84; 56,25) ($p=0,855$, Log Rank-Test).

7.17 Überlebenszeitanalysen nach HPV-Status

In der Gruppe der HPV-positiven Patienten (n=53) kam es zu acht Todesfällen, während es in der Gruppe der HPV-negativen Patienten (n=7) zu zwei Todesfällen kam. Das mittlere Überleben bei HPV-positiven lag somit bei 53,79 Monaten (95%-KI 49,13; 58,45) und bei HPV-negativen Patienten bei 52,42 Monaten (95%-KI 40,13; 64,72). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p=0,406$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 24).

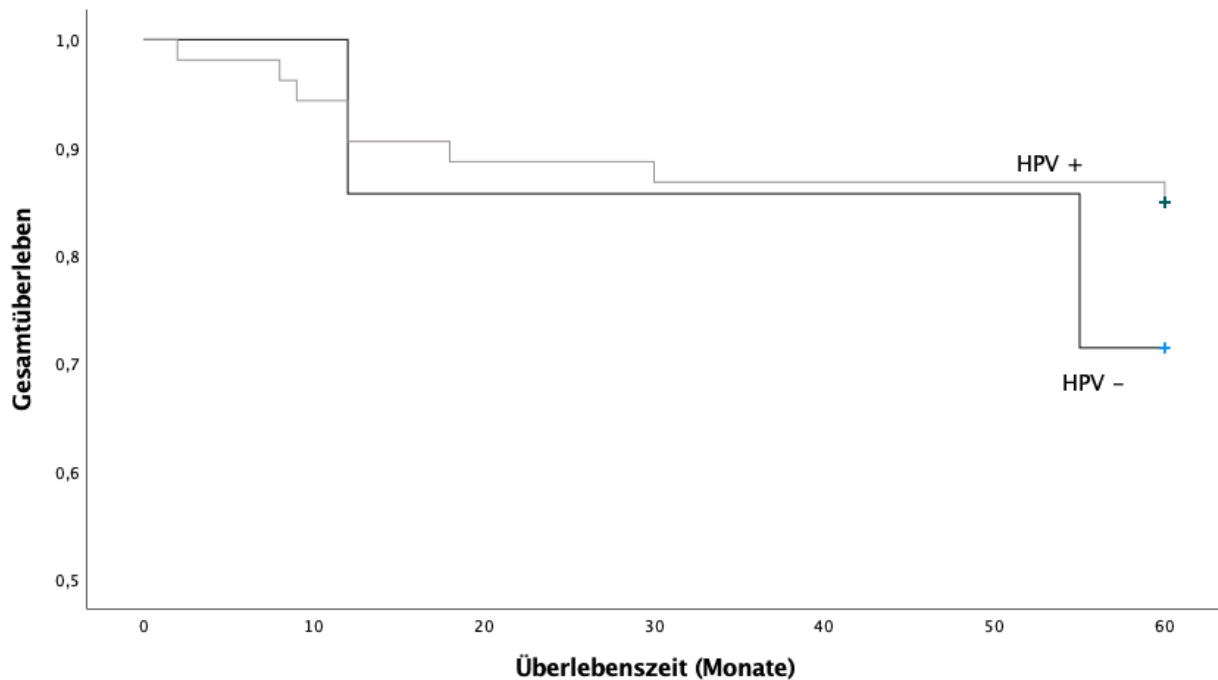


Abbildung 24: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom HPV-Status nach Kaplan-Meier

HPV=humanes Papillomvirus; $p=0,406$ (Log Rank-Test)

Das mittlere PFS war bei negativem HPV-Status 41 Monate (n=8, 95%-KI 24,84; 57,15) und somit kürzer als bei HPV-positiven Patienten (n=54, 49,44 Monate, 95%-KI 44,01; 54,87). Statistisch war dieser Unterschied jedoch nicht signifikant ($p=0,178$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 25).

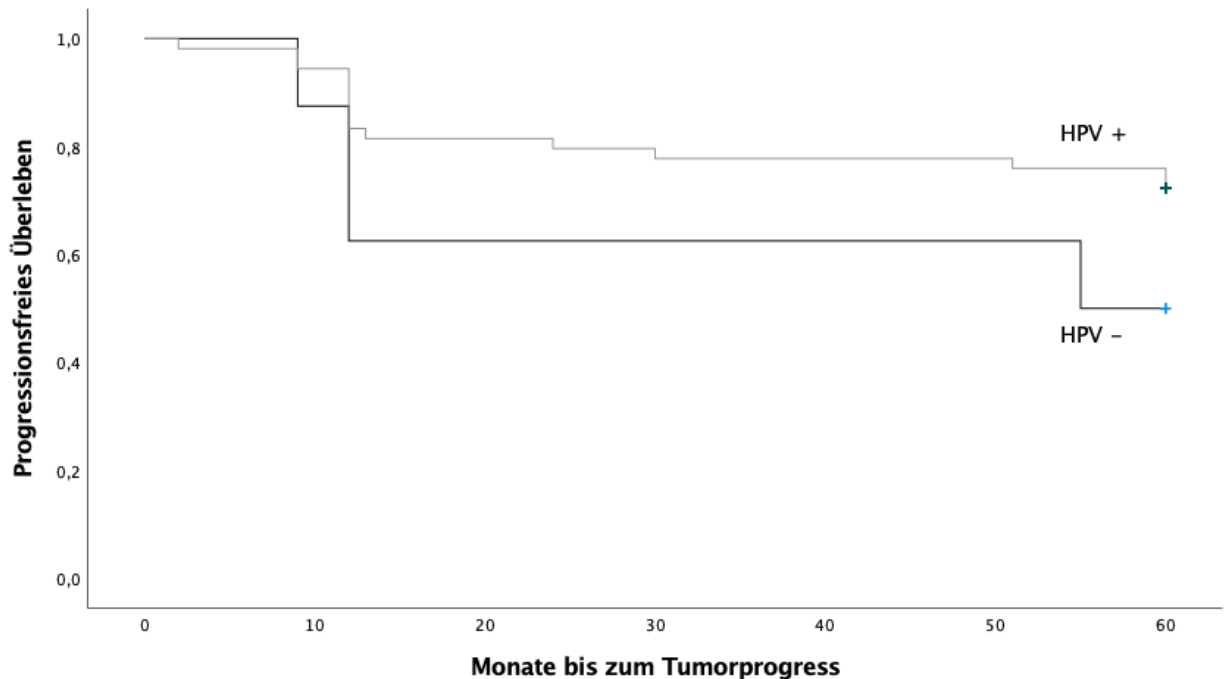


Abbildung 25: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom HPV-Status nach Kaplan-Meier

HPV=humanes Papillomvirus; $p=0,178$ (Log Rank-Test)

Beim Vergleich des OS zwischen den Patienten mit Nachweis von HR-HPV-Subtypen ($n=52$) und HR-HPV-negativen Patienten ($n=8$) ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,539$, Log Rank-Test). Das PFS bei Patienten ohne Nachweis von HR-HPV ($n=9$) lag bei 47,25 Monaten (95%-KI 25,6; 68,89) als Patienten mit HR-HPV ($n=53$, 46,05 Monate, 95%-KI 35,99; 56,11). Dieser Unterschied im PFS war statistisch nicht signifikant ($p=0,702$, Log Rank-Test) (s. Abbildung 27).

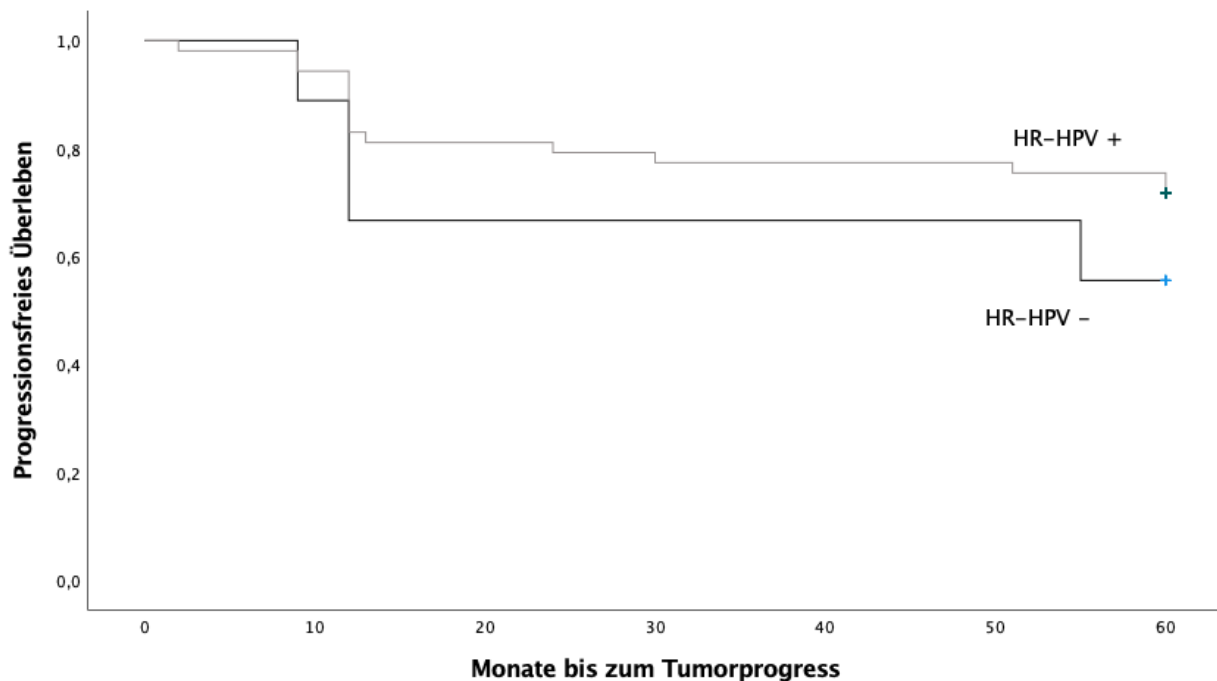


Abbildung 26: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit vom HR-HPV-Status nach Kaplan-Meier

HR-HPV=high-risk humanes Papillomvirus; $p=0,702$ (Log Rank-Test)

Eine Analyse des OS in Abhängigkeit vom Vorliegen des häufigsten HPV-Subtyps 16 ergab ein kürzeres mittleres Überleben bei HPV-16-negativen Patienten (47,72, 95%-KI 36,07; 59,47) als bei HPV-16-positiven (54,95, 95%-KI 50,34; 59,57). Der Unterschied war statistisch jedoch knapp nicht signifikant ($p=0,051$, Log Rank-Test), auch nicht im PFS ($p=0,104$, Log Rank-Test).

Die Patienten wurden zudem anhand der Anzahl gleichzeitig vorliegender HPV-Subtypen in einem Tumorpräparat unterteilt und miteinander verglichen. Das OS lag bei HPV-negativen ($n=7$) bei 52,43 (95%-KI 40,13; 64,72), bei Nachweis eines HPV-Subtyps ($n=33$) bei 53,93 Monaten (95%-KI 47,66; 60,21) und bei Nachweis zwei oder mehr verschiedener HPV-Subtypen ($n=20$) bei 53,55 Monaten (95%-KI 46,63; 60,46). Der Unterschied im OS war im paarweisen Vergleich ohne statistische Signifikanz (s. Abbildung 29). Das mittlere PFS war bei HPV-negativen ($n=8$) am kürzesten (41 Monate, 95%-KI-24,84; 57,15). Bei Vorliegen eines HPV-Subtyps ($n=34$) lag es bei 49,5 Monaten (95%-KI 42,38; 56,61), bei zwei oder mehreren HPV-Subtypen ($n=20$) bei 49,35 Monaten (95%-KI 41,07; 57,62). Die Unterschiede waren im paarweisen Vergleich statistisch nicht signifikant (s. Abbildung 28). Weiterhin wurde ein

geschlechtsabhängiger Effekt einer bestehenden HPV-Infektion auf das Überleben untersucht. Dabei zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im OS zwischen HPV-negativen (n=2) und HPV-positiven Männern (n=17) ($p=0,540$, Log Rank-Test) sowie zwischen HPV-negativen Frauen (n=2) und HPV-positiven Frauen (n=17) ($p=0,540$, Log Rank-Test) als auch im PFS (Männer $p=0,964$ und Frauen $p=0,964$, Log Rank-Test).

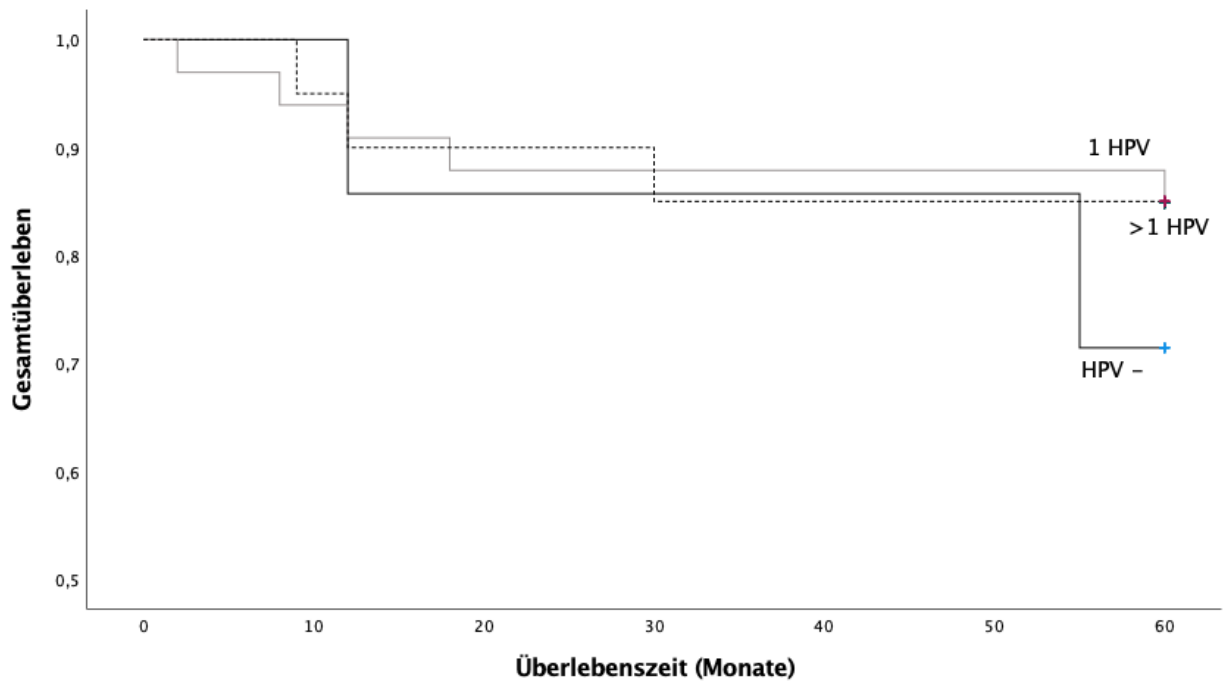


Abbildung 27: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der HPV-Anzahl nach Kaplan-Meier

HPV=humanes Papillomvirus; Kein HPV/1 HPV $p=0,426$; Kein HPV/>1 HPV $p=0,478$; 1 HPV/>1 HPV $p=0,976$ (Log Rank-Test)

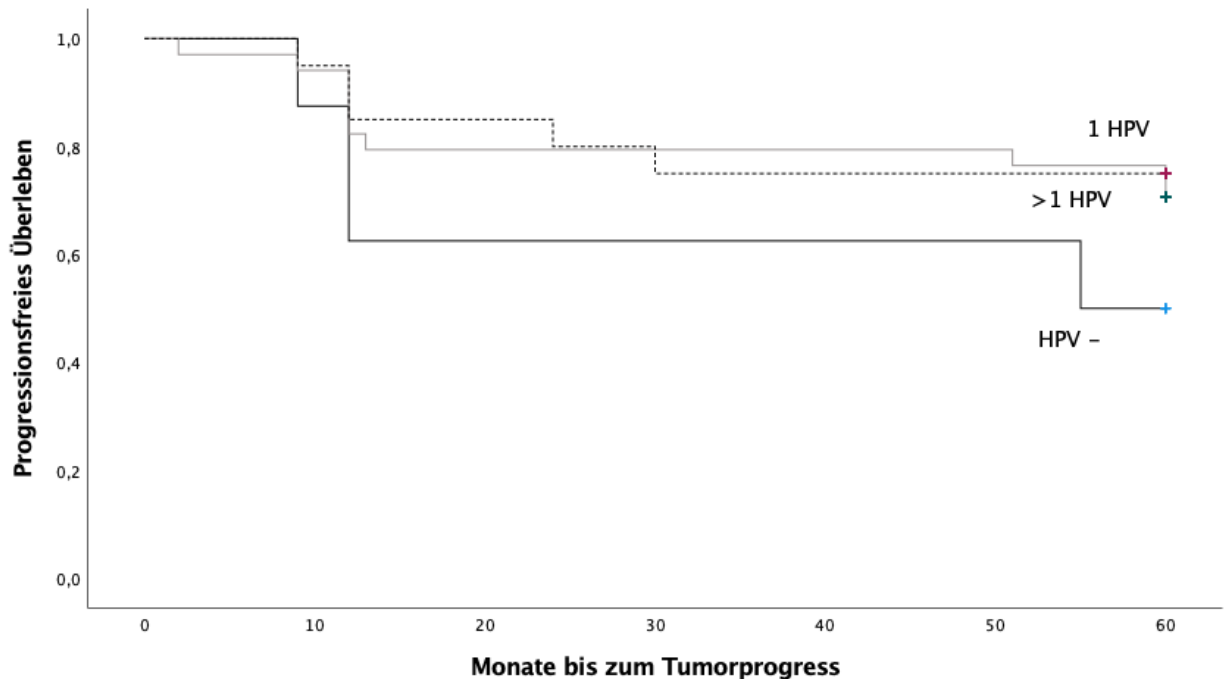


Abbildung 28: Progressionsfreies Überleben in Abhängigkeit von der HPV-Anzahl nach Kaplan-Meier

HPV=humanes Papillomvirus; Kein HPV/1 HPV $p=0,237$; Kein HPV/>1 HPV $p=0,2$; 1 HPV/>1 HPV $p=0,749$ (Log Rank-Test)

7.18 Multivariablenanalyse

Es erfolgte eine Multivariablenanalyse mittels Cox-Regression. Die Auswahl der Variablen erfolgte nach Signifikanz in Bezug auf das Überleben in dieser sowie in bisherigen Studien. Dazu wurden die Faktoren T-Stadium, N-Status und M-Status zusammen mit den Faktoren Alter, Geschlecht und HPV-Status analysiert. Dabei zeigte sich ein signifikant erhöhtes Risiko für ein schlechteres Überleben bei M1-Status im Vergleich zu M0-Status mit einem Hazard Ratio von 0,03 ($p<0,001$) sowie bei Alter über 65 Jahre im Vergleich zu unter 65 Jahre mit einem Hazard Ratio von 10,41 ($p=0,013$) (s. Tabelle 13).

Tabelle 14: Multivariablenanalyse zum Gesamtüberleben mit Cox-Regression

| Faktoren | Hazard Ratio | Signifikanz (p-Wert) | 95%-Konfidenzintervall |
|-------------------|--------------|----------------------|------------------------|
| T1/2 vs. T3/4 | 2,54 | 0,24 | 0,53; 12,15 |
| N0 vs. N+ | 3,97 | 0,14 | 0,63; 24,84 |
| M0 vs. M1 | 0,03 | <0,001 | 0,005; 0,19 |
| Männer vs. Frauen | 0,14 | 0,058 | 0,02; 1,07 |
| HPV- vs. HPV+ | 2,26 | 0,48 | 0,22; 22,72 |
| Alter< vs. >65J | 10,41 | 0,013 | 1,64; 65,88 |

T1/2, T3/4= Tumorstadium; N0/N+ -=Lymphknotenbefall; M0/M1=Fernmetastasierung; HPV=humanes Papillomavirus

Bezüglich des progressionsfreien Überlebens zeigte sich ein signifikant erhöhtes Risiko für einen Progress bei M1-Status im Vergleich zu M0-Status (Hazard Ratio 0,15, p=0,008) sowie bei N+-Status im Vergleich zu N0-Status (Hazard Ratio 3,54, p=0,042) (s. Tabelle 14).

Tabelle 15: Multivariablenanalyse zum Progressionsfreien Überleben mit Cox-Regression

| Faktoren | Hazard Ratio | Signifikanz (p-Wert) | 95%-Konfidenzintervall |
|-------------------|--------------|----------------------|------------------------|
| T1/2 vs. T3/4 | 1,19 | 0,75 | 0,4; 3,56 |
| N0 vs. N+ | 3,54 | 0,042 | 1,04; 12,01 |
| M0 vs M1 | 0,15 | 0,008 | 0,03; 0,61 |
| Männer vs. Frauen | 0,72 | 0,57 | 0,24; 2,18 |
| HPV- Vs HPV+ | 0,44 | 0,35 | 0,07; 2,51 |
| Alter< vs >65J | 1,22 | 0,77 | 0,3; 4,93 |

T1/2, T3/4= Tumorstadium; N0/N+ -=Lymphknotenbefall; M0/M1=Fernmetastasierung; HPV=humanes Papillomavirus

8 Diskussion

In Studien zur prognostischen Faktorenanalyse beim Analkarzinom sind bereits einige Faktoren mehrheitlich als prognostisch relevant identifiziert worden. Bezüglich anderer Faktoren ist die bisherige Datenlage jedoch noch uneins.

In dieser Studie konnten in der univariaten Analyse ein Primärtumor im T-Stadium 3/4, ein initialer Lymphknotenbefall (N1-3) sowie eine Fernmetastasierung (M1) bei

Erstdiagnose als Prädiktoren für ein schlechteres Überleben identifiziert werden. Weiterhin waren ein initialer Lymphknotenbefall sowie eine Fernmetastasierung mit einem signifikant kürzeren progressionsfreien Überleben assoziiert. Dazu passend waren auch ein UICC Stadium III-IV Prädiktoren für ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben sowie progressionsfreies Überleben.

In einer Multivariablenanalyse waren eine Fernmetastasierung und Alter >65 Jahre mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert und in Bezug auf das progressionsfreie Überleben waren initiale Fernmetastasierung und Lymphknotenbefall signifikante Faktoren für ein schlechteres Überleben.

Ein fortgeschrittenes T-Stadium sowie Lymphknotenbefall wurden bereits in mehreren Studien als Prädiktoren für ein schlechteres Überleben analysiert [29] [47] [48] [49] [50] [51] [52] [53]. Ein altersassoziierter Effekt zeigte sich ebenfalls in anderen Studien mit einem jeweils schlechteren Gesamtüberleben bei Patienten >50 Jahre [62] und >60 Jahre [63].

Männliches Geschlecht, zirkumferenzielle Tumorausdehnung, Malignitätsgrad (G-Stadium), HIV- oder HPV-Infektion sowie die Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie zeigten in dieser Studie keine prognostische Relevanz im Hinblick auf das Überleben oder die Rezidivrate. Eine Übersicht der Ergebnisse bisheriger Studien inklusive der vorliegenden Promotion ist in der nachfolgenden Gegenüberstellung dargestellt (Tabelle 14).

| Studie | Jahr, Studiendesign | N | Prädiktoren für LRF (nach 2 J.) | Prädiktoren für ACD (nach 5 J.) | Prädiktoren für schlechtes DFS/PFS (nach 5J.) | Prädiktoren für schlechtes OS (Tod nach 4./5 J.) |
|-----------------------------|----------------------------------|------|--|--|---|--|
| Büning C, Tsintari A et al. | Vorliegende Studie, retrospektiv | 125 | | | M1 (vs. M0 p=0,008) N+ (vs. N0 p=0,042) | M1 (vs M0 p<0.001) Alter>65J (vs. <65J p=0,013) |
| Bruyere D et al. [51] | 2020, retrospektiv | 372 | | | p16 – (vs. p16 + p<0.001) | Alter>60 (vs. <60 p<0.001) P16 – (vs. p16 + p=0.027) T3/4 (vs. T1/2 p=0.039) |
| Lu Y et al. [52] | 2020, retrospektiv | 144 | | | T3/4 (vs. T1/2 p=0.032) | Alter>50 (vs. <50 p=0.28) AJCC Stadium III/IV (vs. I/II p=0.046) N1-3 (vs. N0 p=0.038) |
| Jhaveri J et al. [53] | 2017, retrospektiv | 1063 | | | | m (vs. w p<0.001) m HPV- (vs. m HPV+ p=0.037) |
| Glynne-Jones R et al. [47] | 2012, retrospektiv | 283 | m (vs. w p=0.036) Inguinal N+ (p=0.012) | m (vs. w p=0.039) Inguinal N+ (p=0.031) | | m (vs. w p=0.008) Inguinal N+ (vs. N0 p=0.006) |
| Yhim H et al. [50] | 2011, retrospektiv | 47 | HPV16- (vs HPV16+ p=0.006) | | HPV16 -(vs. HPV16+ p<0.001) N+ (vs. N0 p=0.02) | HPV16 - (vs. HPV16+ p=0.008) N+ (vs. N0 p=0.012) |
| Ajani JA et al [48] | 2010, retrospektiv | 644 | | | Tumor > 5cm (vs. <5cm p=0.04) N+ (vs. N0 p≤0.0001) m (vs. w p=0.02) | Tumor > 5cm (vs. <5cm p=0.004) N+ (vs. N0 p≤0.0001) m (vs. w p=0.016) |
| Roohipour R et al [54] | 2008, retrospektiv | 131 | | | T3/4 (vs. T1/2 p=0.05) RT komplett (vs. Abbruch p=0.01) | |
| Das P et al et al [49] | 2007, retrospektiv | 167 | T3/4 (Vs. T1/2 p=0.023) N+ (vs. N0 p=0.03) | | | N+ (vs. N0 p=0.001) HIV+ (vs. HIV- p=0.014) |
| Bartelink H et al [29] | 1997, prospektiv | 110 | m (vs. w p=0.0035) Hautulzeration (p=0,033) N+ (vs. N0 p=0.0035) | | | m (vs. w p=0.0117) Hautulzeration (p=0.0057) N+ (vs. N0 p=0.0003) |

Tabelle 16: Studien zu prognostischen Faktoren beim Analkarzinom nach Radiochemotherapie, Multivariablenanalyse

LRF= Lokoregional failure (Lokoregionäres Rezidiv); ACD=Anal cancer death (Tod durch Analkarzinom); PFS=progression free survival (Tumorprogressfreies Überleben); DFS= Disease free survival (krankheitsfreies Überleben); OS=Overall survival (Gesamtüberleben); T=Tumorstadium; N+ = Lymphknotenbefall; p16= Protein-Expression im Zellzyklus; M = männlich; W = weiblich; HPV = humanes Papillomvirus; HPV16 = HPV Subtyp 16; AJCC=American Joint Committee on Cancer; UV=univariate Analyse; MV=multivariate Analys

8.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

Das Gesamtkollektiv (n=125) hatte einen höheren Männeranteil (53,6% vs. 46,4%) mit einem niedrigeren medianen Alter bei Erstdiagnose (55 Jahre vs. 59 Jahre bei Frauen). Der Altersdurchschnitt beider Geschlechter lag etwas unter den zuletzt 2016 durch das Robert-Koch-Institut veröffentlichten Daten für Männer (64 Jahre) und Frauen (65 Jahre) [1]. Daten aus Amerika, die zwischen 2013 und 2017 erhoben wurden, ergaben jedoch auch einen jüngeren Altersdurchschnitt zwischen 55 – 65 Jahren bei Erstdiagnose mit einem medianen Alter von 62 Jahren [36]. Möglicherweise zeigt sich in dieser Studie ein Trend zum jüngeren Alter bei Erstdiagnose. In einer kürzlich publizierten Studie von Susko M et al. [51] lag das mediane Alter ebenfalls bei 56,7 Jahren. Entsprechend bisheriger Literatur wurden auch in dieser Studie Analkanalkarzinome deutlich häufiger diagnostiziert als Analrandkarzinome (76% vs. 24%) [21] mit einem höheren Frauenanteil (52,6% vs. 47,4%) und einem höheren Männeranteil bei Analrandkarzinomen (73,3% vs. 26,7%) [3]. Bezüglich der Tumorstadien lag eine ähnliche Verteilung zwischen den Geschlechtern vor mit etwas weniger Patienten in fortgeschrittenen Tumorstadien (UICC III+IV 41,1% vs. UICC I+II 58,9%). Vom Gesamtkollektiv waren alle HIV-positiven Patienten (n=30, 24%) männlich und jünger (70% der HIV-positiven <55 Jahre vs. 30,5% der HIV-negativen) und n=95 Patienten (76%) waren HIV-negativ. Ähnliche Befunde zu Alter und Geschlecht HIV-positiver Analkarzinompatienten sind in anderen Studien beschrieben worden [51] [52] [53] [54] [55].

8.2 Therapie und Nebenwirkungen

Bezüglich der Therapie lagen für n=108 Patienten Daten vor. Davon erhielten=82 Patienten eine Kombination aus Radiotherapie und Chemotherapie mit 5-FU und MMC, welche dem aktuellen therapeutischen Goldstandard entspricht. Da nur n=1 Patient eine alternative Chemotherapie mit 5-FU und Cisplatin erhalten hat, erfolgten hier keine gesonderten Vergleiche in den Überlebensraten oder Nebenwirkungen. Bei den Patienten, die keiner kombinierten RChT zugeführt wurden (n=21), handelte es sich in den meisten Fällen (n=22) um kleine Tumore (T1/T2), die primär reseziert wurden. Ein Patient erhielt mit einem T4-Stadium eine alleinige palliative Chemotherapie. Die hohe Rate an Nebenwirkungen nach kombinierter Radiochemotherapie (64,6%) mit vor allem lokalen dermatologischen Komplikationen wurde schon in vorherigen Studien beschrieben [30] [56]. Mit einem Kolostoma vor Durchführung der Radiochemotherapie

wurden n=8 Patienten (7,4%) versorgt und dies liegt etwas unter der Kolostomie-Rate vor RChT, welche in der aktuellen S3-Leitlinie angegeben wird (10-15%) [3]. Der Großteil der kolostomierten Patienten hatte ein fortgeschrittenes Tumorstadium (n=4 T3, n=4 T4), wie bereits in der Studie von Glynn JR [32] beschrieben, welche vor allem die Kolostomie-Raten analysierte. Es kam auch zu signifikant höheren Kolostomieraten als Zweit- oder Drittlinientherapie bei einem T3/T4-Stadium passend zu den Befunden bisheriger Studien [30] [32].

8.3 HPV-Infektion

Die meisten Analkarzinome (89-100%) sind durch persistierende Infektionen mit HPV induziert, insbesondere den Hochrisiko-HPV-Typen wie HPV 16 [3]. Auch in unserer Studie waren vom Patientenkollektiv mit bekanntem HPV-Status (n=87) 87,35% HPV-positiv. Diese hohe HPV-Infektionsrate beim Analkarzinom entspricht der bisherigen Datenlage [1] [2] [3] [4] [57]. Bei der Subtyp-Differenzierung war HPV 16 wie in bisherigen Studien der am häufigsten nachgewiesene Subtyp und bei 86,8% der HPV-positiven Patienten nachweisbar [8] [57] [5] [58]. Weitere HPV-Subtypen wie HPV 33 und HPV 6 wurden in 11,8% der Fälle nachgewiesen, gefolgt von HPV 18 mit 7,9%. Die Niedrigrisiko-HPV waren zu 12,6% in den Präparaten nachweisbar. Die Häufigkeiten der jeweiligen Subtypen beim Analkarzinom sind ähnlich wie die Ergebnisse bisheriger Studien [5] [8] [57] [58] [59].

Bezüglich der Altersverteilung waren signifikant mehr Patienten <65 Jahre HPV-positiv (93,8%) als Patienten >65 Jahre (88,4%) ($p=0,005$, Chi-Quadrat-Test). Alle HIV-positiven Patienten mit bekanntem HPV-Status (n=20) waren HPV-positiv und bei allen waren HR-HPV-Subtypen nachweisbar. Somit waren HIV-infizierte prozentual häufiger mit HPV infiziert (100% der HIV-positiven vs. 83,6% der HIV-negativen) und hatten häufiger eine Koinfektion mit mehreren HPV-Subtypen (70% der HIV-positiven vs. 20,9% der HIV-negativen >1 HPV-Subtyp). Auch in vorangegangenen Studien war HPV bei vorliegender HIV-Infektion deutlich häufiger nachweisbar [5] [8] [9] und auch multiple HPV-Infektionen waren häufiger [60].

Von den HPV-Subtypen, die bisher noch nicht im neunvalenten Impfstoff enthalten sind, hatte der HPV-Subtyp 51 eine Häufigkeit von 3,9%, die HPV-Subtypen 39, 56, 59, 68 waren in 2,6% und die Subtypen 35, 66 und 73 in 1,3% der Fälle nachweisbar.

Bei n=2 Patienten waren nur HPV-Subtypen nachweisbar, welche noch nicht im neunvalenten Impfstoff enthalten sind. Davon hatte ein Patient eine Koinfektion mit HPV 39 und HPV 68 und beim anderen Patienten war nur HPV 56 nachweisbar. Auch wenn

bereits die meisten in dieser Studie nachgewiesenen HPV-Subtypen im neunvalenten Impfstoff enthalten sind, ist auch bei den nicht enthaltenen Subtypen eine Teilhabe in der Onkogenese des Analkarzinoms möglich und eine Erweiterung des Impfstoffes um diese Subtypen denkbar. Auch die Tatsache, dass bei n=2 Patienten nur der LR-HPV-Subtyp 6 detektiert wurde, unterstützt die Annahme karzinogener Eigenschaften auch der LR-HPV-Subtypen. Diese These war bereits unter anderem in der Studie von Cornall et al geäußert worden [16].

8.4 Überleben

8.5 Überleben des Gesamtkollektivs

Die 5-Jahres-Überlebensrate des Gesamtkollektivs lag in dieser Studie bei 84,9% mit einer mittleren Überlebenszeit von 54,4 Monaten. Die kürzeste Zeit bis zum Tod betrug zwei Monate und die längste Überlebenszeit ≥ 60 Monaten. Das OS in dieser Studie war somit ähnlich wie das in bisherigen Studien ermittelte 5JÜ von 70-86% (Ajani JA et al 78,3% [56], Jhaveri et al 72-75% [61], Lu Y et al 82,8% [62]).

Das progressionsfreie Überleben war bei 70% und lag somit im Bereich des in der Literatur angegebenen Prozentsatzes von 60-80% [29] [56] [62]. Die häufigste Rezidivmanifestation war in Form eines Lokalrezidivs (10%), gefolgt von Lymphknotenmetastasen (6,6%) und Fernmetastasen (4,4%). Zu ähnlichen Ergebnissen in Bezug auf Rezidivmanifestation und Rezidivraten waren auch andere Studien gekommen [29] [49] [63].

8.6 Überleben nach Alter und Geschlecht

Ein Überlebensvorteil für Frauen wie in vorherigen Studien beschrieben, bestand in dieser Studie nicht [29] [47] [48] [61]. Ähnlich große Studien wie unsere zeigten jedoch auch keinen Unterschied im Überleben abhängig vom Geschlecht [49] [50] [63] [64]. Möglicherweise wird der Effekt des schlechteren Überlebens von Männern erst bei größerer Patientenzahl sichtbar.

In einer Multivariablenanalyse war Alter >65 Jahre mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert. In zwei kürzlich publizierten Studien ergaben sich ebenfalls Hinweise für einen altersassoziierten Effekt. Zum einen in der Studie von Lu Y et al [62] mit n=144 Patienten zeigte sich ein schlechteres OS bei Patienten >50 Jahre und in der Studie von Bruyere D et al [63] (n=372) war Alter > 60 Jahre mit einem schlechteren Überleben assoziiert.

8.6.1 Überleben nach HIV-Status

In dieser Studie hatten HIV-negative Patienten ein längeres Gesamtüberleben (55,64 Monate vs. HIV-positive 50,52 Monate) jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,195$, Log Rank-Test). HIV-negative zeigten auch ein längeres mittleres PFS, jedoch ebenfalls ohne statistische Signifikanz (HIV-negativ 48,79 vs. HIV-positiv 47,55) ($p=0,855$, Log Rank-Test). Diese Befunde passen zu den Ergebnissen bisheriger Studien [53] [65] [54] [55] [66]. Ein schlechteres Überleben bei positivem HIV-Status konnte in der Studie von Das P et al [49] nachgewiesen werden, der Anteil HIV-positiver Patienten in der Studie war jedoch relativ gering ($n=6$, Gesamtkollektiv $n=167$), sodass die Aussagekraft fraglich ist. Beachtenswert ist der hohe Anteil an HIV-positiven Patienten in dieser Studie (30%). Die Inzidenzrate ist laut Deutsch-Österreichischer Leitlinie [7] bei HIV-positiven Patienten ca. 30fach erhöht im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung und auch andere Studien wie von White EC et al [65] und Pappou EP et al [66] zeigen mit 25,8% und 21,5% jeweils ähnlich hohe HIV-Raten.

Interessant wären zusätzlich Daten über den Immunstatus und die Viruslast der Patienten mit HIV-Infektion, um den Einfluss einer HIV-induzierten Immundefizienz auf das Überleben zu beurteilen. Diese Informationen lagen in dieser Studie nicht vor.

8.6.2 Überleben nach Tumorcharakteristika

In den meisten Studien mit Faktorenanalyse in Bezug auf das Überleben waren Tumorcharakteristika wichtige prognostische Marker [29] [47] [48] [49] [50] [62] [64]. In unserer Studie waren ein fortgeschrittener Primärtumor (T3/4), initiale Lymphknotenmetastasen (N1-3) sowie initiale Fernmetastasierung in der univariaten Analyse mit einem signifikant schlechteren Überleben assoziiert. In einer multivariaten Analyse blieb eine initiale Fernmetastasierung ein signifikanter Marker für ein schlechteres Gesamtüberleben sowie progressionsfreies Überleben. Ebenfalls signifikant in der multivariaten Analyse war ein Lymphknotenbefall in Bezug auf ein schlechteres progressionsfreies Überleben.

Bezüglich des T-Stadiums zeigten andere Studien ebenfalls eine höhere Rezidivrate [48] [49] [62] [64] sowie ein schlechteres Gesamtüberleben [48] [63] bei einer Tumorgröße $>5\text{cm}$ (T3/4-Stadium). Ein initialer Lymphknotenbefall (N1-3) war in bisherigen Studien mehrheitlich mit schlechterem Gesamtüberleben und progressionsfreiem Leben verbunden [29] [47] [48] [49] [50] [62].

Eine Subgruppenanalyse zeigte ein besseres Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben bei T1/2N0-Status im Vergleich zu T1/2N+-Status und T3/4N+-Status.

Subgruppenanalysen bezüglich Tumorgöße und N-Satus in den Studien von Ajani et al [48] sowie Gunderson LL et al [67] kamen zu ähnlichen Ergebnissen. In unserer Studie hatten Patienten mit fortgeschrittenem Tumorstadium (T3/T4) auch signifikant häufiger ein fortgeschrittenes N-Stadium (N2/N3) ($p=0,036$, Chi-Quadrat-Test). Eine initiale Fernmetastasierung war in dieser Studie mit einem signifikant verminderten Überleben assoziiert. Passend zu den Befunden zu den Tumorcharakteristika fand sich ein signifikant vermindertes Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben bei UICC Stadium III/IV. Die retrospektive Studie von Lu Y et al [52] erbrachte in einer ähnlichen Analyse des Tumorstadiums nach AJCC-Klassifikation ein schlechteres Gesamtüberleben bei AJCC Stadium III/IV.

Patienten mit G3-Tumor (schlecht differenziert) zeigten nur ein leicht verkürztes PFS im Vergleich zu gut differenzierten Tumoren (G1/G2) jedoch ohne signifikanten Effekt, wie bereits in anderen Studien beschrieben [49] [61] [63]. Zu beachten ist der Anteil mit unbekannter G-Kategorie in dieser Studie (GX, 14,4%).

Die Tumorlokalisation (Analkanal vs. Analrand) war ebenfalls nicht mit einer signifikanten Prognoseänderung verbunden, passend zu den Ergebnissen bisheriger Studien [29] [47].

8.6.3 Überleben nach Therapie

Der Vergleich von Patienten, welche als Primärtherapie eine kombinierte Radiochemotherapie erhalten hatten mit Patienten, welche primär reseziert wurden, zeigte keinen signifikanten Unterschied im Überleben. Diese Ergebnisse decken sich mit denen aus der Studie von Bartelink et al [29] sowie aus der 13-jährigen Follow-up-Studie von Glynne-Jones R et al [68], in der eine Radiochemotherapie die Rate der lokalen Tumorkontrolle erhöhte, jedoch nicht das OS.

Es kam in dieser Studie in 30% der Fälle zu einem Tumorprogress nach Primärtherapie, was dem Rezidivrisiko von bis zu 30% aus der Literatur entspricht [3] [29] [49] [56] [69].

Bezüglich OS und therapieassoziierten Nebenwirkungen gab es keinen Unterschied zwischen HIV-positiven und HIV-negativen Patienten, wie auch in anderen Studien beschrieben [54] [55]. Interessanterweise fand die Studie von Linam JM et al [55] eine erhöhte Rate an Dermatitis nach Radiochemotherapie bei HIV-negativen Patienten.

Im Gegensatz dazu wurden in der Studie von Oehler-Jänne C et al [52] deutlich häufiger therapieassoziierte Komplikationen bei HIV-positiven beobachtet.

Zudem wurde in dieser Studie untersucht, ob eine Kolostomaversorgung vor Radiochemotherapie eine Auswirkung auf OS und PFS hat. Dabei zeigten sich keine

signifikanten Unterschiede bei leicht verkürztem OS bei Kolostomaversorgung. Eine ähnliche Gegenüberstellung ist aus der Literatur nicht bekannt. Laut der neuen S3-Leitlinie zum Analkarzinom soll die Indikation zur Stomaanlage vor einer Radiochemotherapie in kurativer Intention insgesamt zurückhaltend gestellt werden, aufgrund der hohen Wahrscheinlichkeit einer permanenten Kolostomie [3].

8.6.4 Überleben nach HPV-Status

Der Zusammenhang zwischen HPV und der Entstehung vom Analkarzinom ist allgemein bekannt [3]. Die Auswirkung einer HPV-Infektion auf das Überleben beim Analkarzinom ist jedoch gemäß der aktuellen Datenlage noch nicht vollends geklärt. In dieser Studie konnten keine Unterschiede im Gesamtüberleben oder progressionsfreien Überleben abhängig vom HPV-Status nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine Tendenz zum schlechteren OS bei HPV16-negativen Patienten im Vergleich zu HPV16-positiven Patienten ($p=0,051$). Ein Überlebensvorteil bei Vorliegen des HPV-Subtyp 16 war bereits in der Studie von Yhim H et al beschrieben worden [50].

Die große retrospektive Studie von Jhaveri J et al ($n=1063$) [61] konnte ebenfalls keinen Unterschied abhängig vom HPV-Status im Gesamtkollektiv aufweisen, zeigte aber einen geschlechtsabhängigen Überlebensvorteil für HPV-positive Männer im Vergleich zu HPV-negativen Männern. Eine Subgruppenanalyse in dieser Studie konnte keinen geschlechtsabhängigen Unterschied im Zusammenhang mit einer HPV-Infektion nachweisen. Andere Studien konnten einen Überlebensvorteil bei HPV-Positivität aufzeigen [59] [70]. Die Studie von Kabaritti R et al [58] zeigte nur für HPV-positive Patienten in fortgeschrittenen Tumorstadien (T3/T4) ein besseres Überleben.

Der HPV-Status war in dieser Studie nicht für alle Patienten bekannt, was sicherlich auch in der Ergebnisauswertung beachtet werden muss. Die unterschiedlichen Befunde zeigen, dass noch weitere größere Studien notwendig sind um den Effekt einer HPV-Infektion als unabhängigen Faktor auf das Überleben zu untersuchen.

8.7 Limitationen der Studie

Diese Studie weist verschiedene Limitationen auf, die bei der Ergebnisauswertung bedacht werden müssen. Erstens handelt es sich um eine retrospektive Studie, in der Hypothesen unterlegt, aber keine sicheren Kausalitäten hergestellt werden können. Patienten mit unvollständigem Datensatz für eine zuverlässige statistische Auswertung wurden daher ausgeschlossen. Eine weitere Schwäche besteht in der geringen Fallzahl

von Patienten mit einem Follow-up von 5 Jahren. Da das Analkarzinom heutzutage durch die kombinierte Radiochemotherapie gute 5-Jahres-Überlebensraten zwischen 72-89% hat [2] [7], sind größere Fallzahlen und längere Beobachtungszeiträume zum Treffen von Aussagen zum Überleben sinnvoll. Aufgrund der Seltenheit des Analkarzinoms als Tumorentität sind die Fallzahlen in bisherigen Studien jedoch meist gering. Die prognostische Relevanz einer bestehenden HPV-Infektion auf die Überlebensrate ist bisher nur in wenigen Studien untersucht worden [58] [59] [61] [71]. Die hohe Fallzahl mit bekanntem HPV-Status sowie die nachträglich durchgeführte Subtypendifferenzierung zählen zu den Stärken dieser Studie.

Zudem ist die aktuelle Studienlage insbesondere im Hinblick auf eine prognostische Faktorenanalyse bisher beschränkt und die Befunde nicht immer übereinstimmend (s. Tabelle 15).

8.8 Zusammenfassung und Ausblick

Das Analkarzinom ist ein seltener Tumor, der insbesondere bei einer bestehenden HIV-Infektion schon im jungen Alter auftreten kann [52] [53] [54]. Die Tatsache, dass es vor allem lokoregionär und schon in den ersten drei Jahren zu Rezidiven kommt, unterstreicht die Wichtigkeit einer gründlichen und regelmäßigen Nachsorge nach Beendigung der Primärtherapie, um frühzeitig auf ein Rezidiv reagieren zu können [25] [29].

Die wichtigsten prognostischen Faktoren in Bezug auf das Gesamtüberleben sowie das progressionsfreie Überleben scheinen die Tumorgröße, der Lymphknotenstatus, Fernmetastasen sowie das Alter zu sein [29] [47] [48] [49] [50] [56] [62][63].

In dieser Studie waren eine Fernmetastasierung und Alter >65 Jahre mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert und in Bezug auf das progressionsfreie Überleben waren initiale Fernmetastasierung und Lymphknotenbefall signifikante Faktoren für ein schlechteres Überleben.

Als besondere Stärke dieser Studie ist die hohe Anzahl an Patienten mit bekanntem HPV-Status hervorzuheben, welche nachträglich bezüglich der Subtypen analysiert werden konnten. Somit konnte gesondert der Effekt der verschiedenen Subtypen auf das Überleben untersucht werden. In dieser Studie war eine HPV-Infektion kein Prognosefaktor für das Überleben, aber bei Vorliegen des HPV-Subtyps 16 bestand eine deutliche Tendenz zum längerem Gesamtüberleben. Die Studie von Yhim et al [50] kam zu einem ähnlichen Ergebnis, so wie auch weitere Studien einen

Überlebensvorteil bei HPV-Positivität aufweisen konnten [58] [59] [70]. Als Erklärung dafür wird ein möglicherweise besseres Ansprechen auf eine Radiochemotherapie angenommen [50]. In einigen Studien korrelierte eine Expression von p16 mit einem besseren Gesamtüberleben und besserer Tumorkontrolle. Als Mechanismus wird angenommen, dass virale Onkogene über eine Blockierung bestimmter Tumorsuppressorgene wie p53 zu einer Überexpression von p16 führen [3] [17]. Die Studie von Walker et al [74] konnte neben einer Überexpression von p16 unter anderem eine häufige Expression vom Epidermal-growth-factor-Rezeptor (EGFR) in HPV-positiven Analkarzinomen nachweisen. Diese Befunde sind vielversprechend, da sie zu neuen Therapieansätzen mit Tyrosinkinase-Inhibitoren und monoklonalen EGFR-Antikörpern führen können [75]. Zwei kleine retrospektive Studien konnten bereits einen Benefit beim Einsatz von EGFR-Inhibitoren begleitend zu einer Chemotherapie beim fortgeschrittenen Analkarzinom feststellen [76] [77]. Weitere große randomisierte Studien sind notwendig mit immunhistochemischer Detektion von EGFR- und p16-Expression um die Patienten zu identifizieren, die von einer zusätzlichen Therapie mit Tyrosinkinase-Inhibitoren profitieren würden.

Da HPV eine immunogene Reaktion mit Infiltration des Tumors mit Lymphozyten auslöst [78], scheint zudem der Einsatz von Immuntherapeutika beim Analkarzinom, so wie auch bereits bei anderen HPV-assoziierten Karzinomen, erfolgversprechend. Daran setzen Immuntherapeutika wie Nivolumab und Pembrolizumab an, welche bisher nur in kleinen nicht-vergleichenden Studien beim fortgeschrittenem Analkarzinom untersucht wurden und bereits eine gute Verträglichkeit zeigten [39] [79]. Auch bezüglich der Immuntherapie sind weitere größere Vergleichsstudien notwendig.

Durch die prophylaktische neunvalente Impfung gegen die HPV-Subtypen 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, und 58 wird zumindest teilweise ein Schutz vor anogenitalen Karzinomen erreicht werden können. In einer randomisierten Studie mit 602 Männern mit gleichgeschlechtlichen Sexualkontakten konnte die Effektivität in der Prävention von analen Dysplasien, den Vorstufen des Analkarzinoms, durch eine Impfung mit dem quadrivalenten HPV-Impfstoff bereits nachgewiesen werden [80]. Auch in der kleinen Studie von Swedish KA et al [71] konnte bei vorbestehenden high-grade AIN durch die Impfung mit dem neunvalenten Impfstoff eine reduzierte Rezidivrate festgestellt werden. Um eine effektive Herdenimmunität zu erreichen, muss jedoch die bisher noch niedrige Impfquote gesteigert werden. Die bisherige Datenlage suggeriert, dass ein Impfschutz gegen HPV für Frauen und Männer zur Senkung der Inzidenz- und Sterberate der assoziierten Karzinome führen könnte. Insbesondere die Impfung der Jungen sollte

mehr Bestandteil gängiger Praxis werden. In dieser Studie gab es Analkarzinome, bei denen nur HPV-Subtypen detektiert wurden, welche noch nicht im neunvalenten Impfstoff enthalten sind. Eine Aufnahme dieser HPV-Subtypen (39, 56 und 68) in den bereits bestehenden Impfstoff wäre denkbar. Dazu sollten noch weitere Studien durchgeführt werden, um deren eigenständig karzinogenes Potenzial weiter zu untersuchen.

9 Literaturverzeichnis

- [1] Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, „Krebs in Deutschland 2015/2016“, Berlin.
- [2] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen YJ, Ciombor KK, Cohen S, Cooper HS, Deming D, Engstrom PF, Grem JL, Grothey A, Hochster HS, Hoffe S, Hunt S, Kamel A, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Messersmith WA, Meyerhardt J, Mulcahy MF, Murphy JD, Nurkin S, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous CT, Stoffel EM, Stotsky-Himelfarb E, Willett CG, Wuthrick E, Gregory KM, Freedman-Cass DA, "Anal Carcinoma, Version 2.2018", NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, **16**(7): p. 852-871, 2018.
- [3] AWMF Reg.-Nr. 081-004OL. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF), „S3-Leitlinie Analkarzinom: Diagnostik, Therapie und Nachsorge von Analkanal- und Analrandkarzinomen“.
- [4] de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S, „Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type“, *International Journal of Cancer*, **141**(4): p. 664-670, 2017.
- [5] Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, Schwartz SM, Shera KA, Wurscher MA, Carter JJ, Porter PL, Galloway DA, McDougall JK, „Human papillomavirus, smoking and sexual practices in the etiology of anal cancer“, *Cancer*, **101**(2): p. 270-280, 2004.
- [6] Davis KG, Orangio GR, „Basic Science, Epidemiology, and Screening for Anal Intraepithelial Neoplasia and its Relationship to Anal Squamous Cell Cancer“, *Clin Colon Rectal Surg*, **31**(6): p. 368-378, 2018.
- [7] Brockmeyer N, Degen O, Elderling G, Esser St, Ginkelmaier A, Jessen A, Jongen J, Knechten H, Kreuter A, Mosthaf FA, Oette M, Postel N, Sautter-Bihl ML, Schafberger A, Schalk H, Stellbrink HJ, Swoboda J, Thoden J, Wieland U, „Deutsch-österreichische Leitlinie für Anale Dysplasien und Analkarzinome bei HIV-Infizierten: Prävention, Diagnostik und Therapie,“ AWMF und Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V..
- [8] Lin C, Franceschi S, Clifford GM, „Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis“, *Lancet infect Dis*, **18**(2): p. 198-206, 2018.
- [9] Kreuter A, Potthoff A, Brockmeyer NH, Gambichler T, Swoboda J, Stücker M, Schmitt M, Pfister H, Wieland U, „Anal carcinoma in human immunodeficiency virus-positive men: results of a prospective study from Germany“, *British Journal of Dermatology*, **162**(6): p. 1269-1277, 2010.
- [10] Bernardi MP, Ngan SY, Michael M, Lynch AC, Heriot AG, Ramsay RG, Phillips WA, „Molecular biology of anal squamous cell carcinoma: implications for future research and clinical intervention“, *The Lancet Oncology*, **16**(16): p. 1269-1277, 2015.
- [11] Aigner FA, Werner RN, Siegel R, „Diagnostik und Therapie des Analkarzinoms,“ *Coloproctology*, **42**: p. 55-64, 2020.
- [12] Sunesen KG, Nørgaard M, Thorlacius-Ussing O, Laurberg S, „Immunosuppressive disorders and risk of anal squamous cell carcinoma: A nationwide cohort study in Denmark, 1978-2005“, *International Journal of Cancer*, **127**(3): p. 675-684, 2010.
- [13] Daling JR, Sherman KJ, Hislop TG, Maden C, Mandelson MT, Beckmann AM, Weiss NS, „Cigarette Smoking and the Risk of Anogenital Cancer“, *American*

Journal of Epidemiology, **135**(2): p. 180-189, 1992

- [14] Roberts JR, Siekas LL, Kaz AM, „Anal intraepithelial neoplasia: A Review of diagnosis and management“, *World J Gastrointest Oncol*, **9**(2): p. 50-61, 2017.
- [15] Phillips DH, Hewer A, Scholefield JH, Skinner P, „Smoking-related DNA adducts in anal epithelium“, *Mutat res*, **560**(2): p. 167-172, 2004.
- [16] Cornall AM, Roberts JM, Garland SM, Hillman RJ, Grulich AE, Tabrizi SN, „Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with "low-risk" HPV genotypes 6 and 11“, *Cancer*, **133**(9): p. 2253-2258, 2013.
- [17] Lohr F, Mai S, Analkarzinom, Strahlentherapie, Hrsg., Berlin, Heidelberg: Springer, 2013, **2**: p. 689-701.
- [18] McBride AA, Warburton A, „The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers“, *PLOS Pathog*, **13**(4): p. e1006211, 2017.
- [19] Salmo E, Haboubi N, „Anal cancer: pathology, staging and evidence-based minimum data set“, *Colorectal Dis*, **13**(1): p. 11-20, 2011.
- [20] Wittekind C, Tischoff I, „Tumorklassifikationen - Aktuelle Aspekte und Probleme der Anwendung,“ *Der Pathologe*, **25**: p. 481-491, 2004.
- [21] Jiang Y, Ajani JA, „Anal margin cancer: current situation and ongoing trials“, *Curr Opin Oncol*, **24**(4): p. 448-453, 2012.
- [22] Jacopo M, „Endoanal ultrasound for anal cancer staging“, *Int J Colorectal Dis*, **26**: p. 385-386, 2011.
- [23] Trautmann TG, Zuger JH, „Positron Emission Tomography for Pretreatment Staging and Posttreatment Evaluation in Cancer of the Anal Canal“, *Molecular Imaging and Biology*, **7**: p. 309-313, 2005.
- [24] Jones M, Hruby G, Solomon M, Rutherford N, Martin J, „The role of FDG-PET in initial staging and response assessment of anal cancer: a systematic review and meta-analysis“, *Ann Surg Oncol*, **22**: p. 3574-3581, 2015.
- [25] Glynne-Jones R, Nilsson PJ, Aschele C, Goh V, Peiffert D, Cervantes A, Arnold D, „Anal cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up“, *European Journal of Surgical Oncology*, **40**(10): p. 1165-1176, 2014.
- [26] Uronis HE, Bendell JC, „Anal Cancer: an Overview,“ *Oncologist*, **12**(5): p. 524-534, 2007.
- [27] Nigro ND, Vaitkevicius VK, Considine B Jr, „Combined therapy for cancer of the anal canal: a preliminary report,“ *Dis Colon Rectum*, **17**: p. 354-356, 1996.
- [28] Flam M, John M, Pajak TF, Petrelli N, Myerson R, Doggett S, Quivey J, Rotman M, Kerman H, Coia L, Murray K, „Role of mitomycin with fluorouracil and radiotherapy, and of salvage chemoradiation in the definitive nonsurgical treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal: results of a phase III randomized intergroup study,“ *J Clin Oncol*, **14**(9): p. 2527-2539, 1996.
- [29] Bartelink H, Roelofsen F, Eschwege F, Rougier P, Bosset JF, Gonzalez DG, Peiffert D, van Glabbeke M, Pierart M, „Concomitant radiotherapy and chemotherapy is superior to radiotherapy alone in the treatment of locally advanced anal cancer: Results of a phase III randomized trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer“, *Journal of Clinical Oncology*, **15**(5): p. 2040-2049, 1997.
- [30] James RD, Glynne-Jones R, Meadows HM, Cunningham D, Myint AS, Saunders MP, Maughan T, McDonald A, Essapen S, Leslie M, Falk S, Wilson C, Gollins S,

- Begum R, Ledermann J, Kadalayil L, Sebag-Montefiore D, „Mitomycin or cisplatin chemoradiation with or without maintenance chemotherapy for treatment of squamous-cell carcinoma of the anus (ACT II): a randomized, phase 3, open-label, 2x2 factorial trial“, *The Lancet Oncology*, **14**(6): p. 516-524, 2013.
- [31] Goodman KA, Julie D, Cercek A, Cambridge L, Woo KM, Zhang Z, Wu AJ, Reidy DL, Segal NH, Stadler ZK, Saltz LB, „Capecitabine With Mitomycin Reduces Acute Hematologic Toxicity and Treatment Delays in Patients Undergoing Definitive Chemoradiation Using Intensity Modulated Radiation Therapy for Anal Cancer“, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **98**(5): p. 1087-1095, 2017.
- [32] Glynne-Jones R, Kadalayil L, Meadows HM, Cunningham D, Samuel L, Geh JI, Lowdell C, James R, Beare S, Begum R, Ledermann JA, Sebag-Montefiore D, „Tumor- and treatment-related colostomy rates following mitomycin C or cisplatin chemoradiation with or without maintenance chemotherapy in squamous cell carcinoma of the anus in the ACT II trial“, *Annals of Oncology*, **25**(8): p. 1616-1622, 2014.
- [33] Russo S, Anker CJ, Abdel-Wahab M, Azad N, Bianchi N, Das P, Dragovic J, Goodman KA, Jones W 3rd, Kennedy T, Kumar R, Lee P, Sharma N, Small W, Suh WW, Jabbour SK, „Executive Summary of the American Radium Society Appropriate Use Criteria for treatment of Anal Cancer“, *Int J Radiation Oncol Biol Phys*, **105**(3): p. 591-605, 2019.
- [34] Sauter M, Lombriser N, Bütikofer S, Keilholz G, Kranzbühler H, Heinrich H, Rogler G, Vavricka SR, Misselwitz B, „Improved treatment outcome and lower skin toxicity with intensity-modulated radiotherapy vs. 3D conventional radiotherapy in anal cancer“, *Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, **196**: p. 356-367, 2020.
- [35] Bosset JF, Roelofsen F, Morgan DA, Budach V, Coucke P, Jager JJ, Van der Steen-Banasik E, Trivière N, Stüben G, Puyraveau M, Mercier M, „Shortened irradiation scheme, continuous infusion of 5-fluorouracil and fractions of mitomycin C in locally advanced anal carcinomas. results of a phase II study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer“, *European Journal of Cancer*, **39**: p. 45-51, 2003.
- [36] Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, „SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016“, National Cancer Institute, April 2019. [Online]. Available: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/. [Zugriff am März 2020].
- [37] Kim S, François E, André T, Samalin E, Jary M, El Hajbi F, Baba-Hamed N, Pernot S, Kaminsky MC, Bouché O, Desrame J, Zoubir M, Ghiringhelli F, Parzy A, De La Fouchardiere C, Smith D, Deberne M, Spehner L, Badet N, Adotevi O, Anota A, Meurisse A, Vernerey D, Taieb J, Vendrely V, Buecher B, Borg C, „Docetaxel, cisplatin and fluorouracil chemotherapy for metastatic or unresectable locally recurrent anal squamous cell carcinoma (Epitopes-HPV02): a multicenter, single-arm, phase 2 study“, *The Lancet Oncology*, **19**(8): p. 1094-1106, 2018.
- [38] Mondaca S, Chatila WK, Bates D, Hechtman JF, Cercek A, Segal NH, Stadler ZK, Varghese AM, Kundra R, Capanu M, Shia J, Schultz N, Saltz L, Yaeger R, „FOLFCIS Treatment and Genomic Correlates of response in Advanced Anal Squamous Cell Cancer“, *Clinical Colorectal Cancer*, **18**(1): p. pe39-e52, 2019.
- [39] Morris VK, Salem ME, Nimeiri H, Iqbal S, Singh P, Ciombor K, Polite B, Deming D, Chan E, Wade JL, Xiao L, Bekaii-Saab T, Vence L, Blando J, Mahvash A, Foo WC, Ohaji C, Pasia M, Bland G, Ohinata A, Rogers J, Mehdizadeh A, Banks K, Lanman R, Wolff RA, Streicher H, Allison J, Sharma P, Eng C, „Nivolumab for previously treated unresectable metastatic anal cancer (NCI9673): a multicenter, single-arm,

- phase 2 study“, *The Lancet Oncology*, **18**(4): p. 446-453, 2017.
- [40] Robert-Koch-Institut, *Epid. Bull.*, „Wissenschaftliche Begründung für die Empfehlung der HPV-Impfung für Jungen im Alter von 9 bis 14 Jahren,“ **24**: p. 233-254, 2018.
- [41] Rieck T, Feig M, Siedler A, Wichmann O, „Aktuelles aus der KV-Impfsurveillance-Impfquoten ausgewählter Schutzimpfungen in Deutschland,“ *Epid. Bull.*, **1**: p. 1-14, 2018.
- [42] Garland SM, „The Australian Experience With the human Papillomavirus Vaccine“, *Clinical Therapeutics*, **36**(1): p. 17-23, 2014.
- [43] Lehtinen M, Dillner J, „Clinical trials of human papillomavirus vaccines and beyond“, *Nat Rev Clin Oncol*, **10**(7): p. 400-410, 2013.
- [44] Bosch FX, Robles C, Díaz M, Arbyn M, Baussano I, Clavel C, Ronco G, Dillner J, Lehtinen M, Petry KU, Poljak M, Kjaer SK, Meijer CJ, Garland SM, Salmerón J, Castellsagué X, Bruni L, de Sanjosé S, Cuzick J, „HPV-FASTER: broadening the scope for prevention of HPV-related cancer,“ *Nature Reviews Clinical Oncology*, **13**: p. 119-132, 2016.
- [45] Meites E, Szilagyi PG, Chesson HW, Unger ER, Romero JR, Markowitz LE, „Human Papillomavirus Vaccination for adults: Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices“, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, **68**: p. 698-702, 2019.
- [46] Kriegsmann M, Wandernoth P, Lisenko K, Casadonte R, Longuespée R, Arens N, Kriegsmann J, „Detection of HPV-Subtypes by Mass Spectrometry in FFPE Tissue Specimens: A Reliable Tool for Routine Diagnostics,“ *J Clin Pathol*, **70**(5): p. 417-423, 2017.
- [47] Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, Adams R, Gollins S, Harrison M, Meadows HM, Jitlal M, „Prognostic factors for recurrence and survival in anal cancer - generating hypothesis from mature outcomes of the first United Kingdom Coordinating Committee of Cancer Research Anal Cancer Trial (ACT I)“, *Cancer*, **119**(4): p. 748-755, 2013.
- [48] Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL, Pedersen J, Benson AB 3rd, Thomas CR Jr, Mayer RJ, Haddock MG, Rich TA, Willett CG, „Prognostic factors derived from a prospective database dictate clinical biology of anal cancer - The intergroups trial (RTOG 98-11)“, *Cancer*, **116**(17): p. 5007-4013, 2010.
- [49] Das P, Bhatia S, Eng C, Ajani JA, Skibber JM, Rodriguez-Bigas MA, Chang GJ, Bhosale P, Delclos ME, Krishnan S, Janjan NA, Crane CH, „Predictors and Patterns of Recurrence After Definitive Chemoradiation for Anal Cancer“, *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, **68**(3): p. 794-800, 2007.
- [50] Yhim HY, Lee NR, Song EK, Kwak JY, Lee ST, Kim JH, Kim JS, Park HS, Chung IJ, Shim HJ, Hwang JE, Kim HR, Nam TK, Park MR, Shim H, Park HS, Kim HS, Yim CY, „The prognostic significance of tumor human papillomavirus status for patients with anal squamous cell carcinoma treated with combined chemoradiotherapy“, *International Journal of Cancer*, **129**(7): p. 1752-1760, 2011.
- [51] Susko M, Wang CJ, Lazar AA, Kim S, Laffan A, Feng M, Ko A, Venook AP, Atreya CE, Van Loon K, Anwar M, „Factors Impacting Differential Outcomes in the Definitive Radiation Treatment of Anal Cancer Between HIV-positive and HIV-negative Patients,“ *The Oncologist*, **25**(9): p. 772-779, 2020.
- [52] Oehler-Jänne C, Huguet F, Provencher S, Seifert B, Negretti L, Riener MO, Bonet M, Allal AS, Ciernik IF, „HIV-Specific Difference in Outcome of Squamous Cell

- Carcinoma of the Anal Canal: A Multicentric Cohort Study of HIV-positive Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy“, *Journal of Clinical Oncology*, **26**(15): p. 2550-2557, 2008.
- [53] Martin D, Balermipas P, Fokas E, Rödel C, Yildirim M, „Are there HIV-specific Differences for Anal Cancer Patients Treated with Standard Chemoradiotherapy in the Era of combined Antiretroviral Therapy?“, *Clinical Oncology*, **29**(4): p. 248-255, 2017.
- [54] Fraunholz I, Rabeneck D, Gerstein J, Jäck K, Haberl A, Weiss C, Rödel C, „Concurrent chemoradiotherapy with 5-fluorouracil and mitomycin C for anal carcinoma: are there differences between HIV-positive and HIV-negative patients in the era of highly active antiretroviral therapy?“, *Radiother Oncol*, **98**(1): p. 99-104, 2011.
- [55] Linam JM, Chand RR, Broudy VC, Liu KC, Back AL, Lin EH, Patel SA, „Evaluation of the impact of HIV serostatus, tobacco smoking and CD4 counts on epidermoid anal cancer survival“, *Int J STD AIDS*, **23**(2): p. 77-82, 2012.
- [56] Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL, Pedersen J, Benson AB 3rd, Thomas CR Jr, Mayer RJ, Haddock MG, Rich TA, Willett C, „Fluorouracil, Mitomycin and Radiotherapy vs Fluorouracil, Cisplatin and Radiotherapy for Carcinoma of the Anal Canal - A Randomized Controlles Trial“, *JAMA*, **299**(16): p. 1914-1921, 2008.
- [57] Alemany L, Saunier M, Alvarado-Cabrero I, Quirós B, Salmeron J, Shin HR, Pirog EC, Guimerà N, Hernandez-Suarez G, Felix A, Clavero O, Lloveras B, Kasamatsu E, Goodman MT, Hernandez BY, Laco J, Tinoco L, Geraets DT, Lynch CF, Mandys V, Poljak M, Jach R, Verge J, Clavel C, Ndiaye C, Klaustermeier J, Cubilla A, Castellsagué X, Bravo IG, Pawlita M, Quint WG, Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, „Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide“, *International Journal of Cancer*, **136**(1): p. 98-107, 2015.
- [58] Kabarriti R, Brodin NP, Ohri N, Narang R, Huang R, Chuy JW, Rajdev LN, Kalnicki S, Guha C, Garg MK, „Human papillomavirus, radiation dose and survival of patients with anal cancer“, *Acta oncologica*, **58**(12): p. 1745-1751, 2019.
- [59] Serup-Hansen E, Linnemann D, Skovrider-Ruminski W, Høgdall E, Geertsen PF, Havsteen H, „Human papillomavirus genotyping and p16 expression as prognostic factors in patients with American Joint Committee on Cancer stages I to III carcinoma of the anal canal“, *J Clin Oncol*, **32**(17): p. 1812-1817, 2014.
- [60] Lin C, Franceschi S, Clifford GM, „Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV-status: a systematic review and meta-analysis“, *Lancet Infect Dis*, **18**(2): p. 198-206, 2018.
- [61] Jhaveri J, Rayfield L, Liu Y, Chowdhary M, Cassidy RJ, Madden NA, Tanenbaum DG, Gillespie TW, Patel PR, Patel KR, Landry JC, „Prognostic relevance of human papillomavirus infection in anal squamous cell carcinoma: analysis of the national cancer data base“, *J Gastrointest Oncol*, **8**(6): p. 998-1008, 2017.
- [62] Lu Y, Wang X, Li P, Zhang T, Zhou J, Ren Y, Ding Y, Peng H, Wei Q, You K, Ong JJ, Fairley CK, Grulich AE, Huang M, Gao Y, Zou H, „Clinical characteristics and prognosis of anal squamous cell carcinoma: a retrospective audit of 144 patients from 11 cancer hospitals in southern china“, *BMC Cancer*, **20**(1): p. 679, 2020.
- [63] Bruyere D, Monnien F, Colpart P, Roncarati P, Vuitton L, Hendrick E, Lepinoy A, Luquain A, Pilard C, Lerho T, Molimard C, Maingon P, Arnould L, Bone-Lepinoy MC, Dusserre L, Martin L, Reynders C, Ancion M, Peiffert D, Leroux A, Hubert P, Delhorme JB, Ghnassia JP, Woronoff AS, Delvenne P, Prétet JL, Bosset JF, Peulen O, Mouglin C, Valmary-Degano S, Herfs M, „Treatment algorithm and

- prognostic factors for patients with stage I-III carcinoma of the anal canal: a 20-year multicenter study," *Modern Pathology*, **34**: p. 116-130, 2020.
- [64] Roohipour R, Patil S, Goodman KA, Minsky BD, Wong WD, Guillem JG, Paty PB, Weiser MR, Neuman HB, Shia J, Schrag D, Temple LK, „Squamous-cell carcinoma of the anal canal: predictors of treatment outcome“, *Dis Colon Rectum*, **51**(2): p. 147-153, 2008.
- [65] White EC, Khodayari B, Erickson KT, Lien WW, Hwang-Graziano J, Rao AR, „Comparison of Toxicity and Treatment Outcomes in HIV-positive Versus HIV-negative Patients With Squamous Cell Carcinoma of the Anal Canal“, *American Journal of Clinical Oncology*, **40**(4): p. 386-392, 2017.
- [66] Pappou EP, Magruder JT, Fu T, Hicks CW, Herman JM, Fang S, Wick EC, Safar B, Gearhart SL, Efron JE, „Prognostic and Predictive Clinicopathologic Factors of Squamous Anal Cancer in HIV-positive and HIV-negative Patients: Does HAART Influence Outcomes?“, *World Journal of Surgery*, **42**(3): p. 876-883, 2018.
- [67] Gunderson LL, Moughan J, Ajani JA, Pedersen JE, Winter KA, Benson AB 3rd, Thomas CR Jr, Mayer RJ, Haddock MG, Rich TA, Willett CG, „Anal Carcinoma: Impact of TN Category of Disease on Survival, Disease Relapse, and Colostomy Failure in US Gastrointestinal Intergroup RTOG 98-11 Phase 3 Trial“, *2013*, **87**(4): p. 638-645.
- [68] Northover J, Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, James R, Meadows H, Wan S, Jitlal M, Ledermann J, „Chemoradiation for the treatment of epidermoid anal cancer: 13-year follow-up of the first randomized UKCCCR Anal Cancer Trial (ACT I)“, *British Journal of Cancer*, **102**: p. 1123-1128, 2010.
- [69] Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, Meadows HM, Cunningham D, Begum R, Adab F, Benstead K, Harte RJ, Stewart J, Beare S, Hackshaw A, Kadalayil L, „Best time to assess complete clinical response after chemoradiotherapy in squamous cell carcinoma of the anus (ACT II): a post-hoc analysis of randomized controlled phase 3 trial“, *The Lancet Oncology*, **18**(3): p. 347-356, 2017.
- [70] Mai S, Welzel G, Ottstadt M, Lohr F, Severa S, Prigge ES, Wentzensen N, Trunk MJ, Wenz F, von Knebel-Doeberitz M, Reuschenbach M, „Prognostic Relevance of HPV Infection and p16 Overexpression in Squamous Cell Anal Cancer“, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **93**(4): p. 819-827, 2015.
- [71] Swedish KA, Factor SH, Goldstone SE, „Prevention of recurrent high-grade anal neoplasia with quadrivalent human papillomavirus vaccination of men who have sex with men: a noncurrent cohort study“, *Clin Infect Dis*, **54**(7): p. 891-898, 2012.
- [72] Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM, „Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis“, *The Lancet*, **370**(9581): p. 59-67, 2007.
- [73] European AIDS Clinical Society, „EACS Guidelines, Version 10.0,“ 2019. [Online]. Available: https://www.eacsociety.org/files/2019_guidelines-10.0_final.pdf. [Zugriff am März 2020].
- [74] Walker F, Abramowitz L, Benabderrahmane D, Duval X, Descatoire V, Hénin D, Lehy T, Aparicio T, „Growth factor receptor expression in anal squamous lesions: modifications associated with oncogenic human papillomavirus and human immunodeficiency virus“, *Human Pathology*, **40**(11): p. 1517-1527, 2009.
- [75] Valvo F, Ciurlia E, Avuzzi B, Doci R, Ducreux M, Roelofsen F, Roth A, Trama A, Wittekind C, Bosset JF, „Cancer of the anal region“, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **135**: p. 115-127, 2019.
- [76] Kim DW, Byer J, Kothari N, Mahipal A, Chang YD, Kim RD, „EGFR Inhibitors in

- Patients with advanced Squamous Cell Carcinomas: A Single-Institution Experience“, *Oncology*, **92**(4): p. 190-196, 2017.
- [77] Rogers JE, Ohinata A, Silva NN, Mehdizadeh A, Eng C, „Epidermal growth factor receptor inhibition in metastatic anal cancer“, *Anti-Cancer Drugs*, **27**(8): p. 804-808, 2016.
- [78] Martin D, Rödel F, Balermipas P, Rödel C, Fokas E, „The immune microenvironment and HPV in anal cancer: Rationale to complement chemoradiation with immunotherapy“, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, **1868**(1): p. 221-230, 2017.
- [79] Ott PA, Piha-Paul SA, Munster P, Pishvaian MJ, van Brummelen EMJ, Cohen RB, Gomez-Roca C, Ejadi S, Stein M, Chan E, Simonelli M, Morosky A, Saraf S, Emancipator K, Koshiji M, Bennouna J, „Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with recurrent carcinoma of the anal canal“, *Ann Oncol*, **28**(5): p. 1036-1041, 2017.
- [80] Palefsky JM, Giuliano AR, Goldstone S, Moreira ED Jr, Aranda C, Jessen H, Hillman R, Ferris D, Coutlee F, Stoler MH, Marshall JB, Radley D, Vuocolo S, Haupt RM, Guris D, Garner EI, „HPV vaccine against HPV infection and anal intraepithelial neoplasia,“ *N Engl J Med*, **365**(17): p. 1576-1585, 2011.

10 Lebenslauf

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

11 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Anastasia Tsintari, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Monozentrische Studie zum Verlauf des Analkarzinoms – Welche Marker sind prognostisch relevant?; Monocentric study on th course of anal cancer – which markers are prognostically relevant?“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

12 Danksagung

Mein besonderer Dank geht an Professor Dr. med. Carsten Büning sowie Dr. med. Thorsten Unglaube für die Ermöglichung der Dissertation und die motivierende, konstruktive Betreuung.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der pathologischen Institute „Gemeinschaftspraxis für Pathologie Berlin-Grünwald“ sowie insbesondere bei Dr. med. Maria Grünbaum aus der „PATHOTRES – Gemeinschaftspraxis für Pathologie und Neuropathologie“ für die Hilfestellung bei der Bereitstellung der Gewebeproben.

Weiterhin bedanke ich mich bei Prof. Dr. med. Dr. phil. Jörg Kriegsmann und seinen Mitarbeitern am „MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik Trier“ für die Zusammenarbeit und Untersuchung der Gewebeproben auf HPV.

Schließlich möchte ich meinen Eltern und Freunden für die fürsorgliche und motivierende Unterstützung danken.

13 Bescheinigung des akkreditierten Statistikers



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Name, Vorname: Tsintari, Anastasia
Emailadresse: anastasia.tsintari@charite.de
Matrikelnummer: 223503
PromotionsbetreuerIn: Prof. Dr. med. Carsten Büning
Promotionsinstitution / Klinik: Klinik für Koloproktologie,
Krankenhaus Waldfriede, Lehrkrankenhaus der Charité

Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Anastasia Tsintari innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 26.5.2021

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Hinweis auf explorativen Charakter der Datenanalyse
- Kaplan-Meier Kurven und Cox-Regression zur Analyse von Überlebenszeiten
- Abraten von univariabler Variablenselektion in Regressionsmodellen (siehe Heinze, G., & Dunkler, D. (2017). Five myths about variable selection. *Transplant International*, 30(1), 6-10.)
- Spaltenprozentage in Baselinetabelle berichten

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 26.5.2021

Name der Beraterin: Mareen Pigorsch

Mareen
Pigorsch

Digital unterschrieben von
Mareen Pigorsch
Datum: 2021.05.26 17:01:10
+02'00'

Unterschrift Beraterin, Institutsstempel





CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Frank Konietschke

Name, Vorname: Tsintari, Anastasia
Emailadresse: anastasia.tsintari@charite.de
Matrikelnummer: 223503
PromotionsbetreuerIn: Prof. Dr. med. Carsten Büning
Promotionsinstitution / Klinik: Klinik für Koloproktologie,
Krankenhaus Waldfriede, Lehrkrankenhaus der Charité

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin
Tel. +49 (0)30 450 562171
frank.konietschke@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Anastasia Tsintari innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin1: 26.5.2021
- Termin 2: 27.11.2023
- Termin 3: 18.12.2023

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Hinweis auf explorativen Charakter der Datenanalyse
- Kaplan-Meier Kurven und Cox-Regression zur Analyse von Überlebenszeiten
- Abraten von univariabler Variablenselektion in Regressionsmodellen (siehe Heinze, G., & Dunkler, D. (2017). Five myths about variable selection. *Transplant International*, 30(1), 6-10.)
- Vorschlag für Imputation fehlender Todesdaten bei vorhandenem Todesjahr: Mitte des Jahres (1.7.) und Sensitivitätsanalyse für 1.1. sowie 31.12., um zu prüfen, ob dies zu relevanten Unterschieden in den Ergebnissen führt
- Keine p-Werte in Baselinetable

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.