

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. H. Einsele

**GDF-15 im Zusammenhang mit Therapieerfolg einer Immuncheckpointblockade:  
eine Pilotstudie mit fortgeschrittenen soliden Tumorerkrankungen**  
Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
Dorothea Dombrowski  
aus Stuttgart

Würzburg, September 2021





Referent: Prof. Dr. med. Volker Kunzmann

Koreferent:

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

Die Promovendin ist Ärztin



Für David und meine Eltern.

In der vorliegenden Arbeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Die gewählte männliche Form bezieht sich immer auf alle Geschlechter.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Motivation . . . . .	1
1.2	Immuncheckpointblockade . . . . .	1
1.2.1	Wirkungsweise . . . . .	2
1.2.2	Validierte und potenzielle prädiktive Biomarker . . . . .	4
1.3	GDF-15 . . . . .	6
1.3.1	Bekannte physiologische Bedeutung . . . . .	7
1.3.2	Prädiktiver und prognostischer Wert bei Tumorerkrankungen . . . . .	8
1.3.3	Mitwirkung an Immunevasion . . . . .	9
1.3.4	Im Kontext von Immuncheckpoints . . . . .	10
1.4	Zielsetzung . . . . .	12
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>13</b>
2.1	Studiendesign . . . . .	13
2.2	Ethikvotum und Verantwortung . . . . .	14
2.3	Studienablauf . . . . .	14
2.4	Patientenkollektiv . . . . .	17
2.5	GDF-15-Bestimmung . . . . .	19
2.5.1	Probengewinnung und Aufbereitung . . . . .	19
2.5.2	Enzyme-linked Immunosorbent Assay . . . . .	20
2.6	Datenerhebung und -verarbeitung . . . . .	23
2.7	Statistische Auswertung . . . . .	23
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>25</b>
3.1	Studienpopulation . . . . .	25
3.1.1	Allgemeine Merkmale . . . . .	25
3.1.2	Tumorerkrankung und Therapie . . . . .	26
3.2	GDF-15 und Therapieergebnis getrennt dargestellt . . . . .	29
3.2.1	GDF-15-Messungen . . . . .	29

3.2.2	Therapieergebnis der Studienteilnehmer . . . . .	31
3.3	Analyse des Zusammenhangs von GDF-15 mit Therapieergebnis . . . . .	32
3.3.1	Deskriptiv: Mediane und Quartile nach Therapieergebnis . . . . .	32
3.3.2	Signifikanz des Zusammenhangs . . . . .	35
3.3.3	GDF-15-Spiegel und -Änderung gruppiert nach Grenzwerten . . . . .	37
3.3.4	Auffälligkeiten bei ausgewählten Patienteneigenschaften . . . . .	41
3.4	Zusammenhang des GDF-15-Spiegels mit anderen klinischen Variablen . . . . .	42
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>45</b>
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse . . . . .	45
4.2	Methodik der Pilotstudie . . . . .	46
4.3	GDF-15 als Biomarker für Therapieversagen . . . . .	49
4.3.1	Prädiktiver Wert vor Therapiebeginn . . . . .	49
4.3.2	Anstieg von GDF-15 korreliert mit Therapieversagen . . . . .	50
4.3.3	Beeinflussung durch die Entität . . . . .	51
4.4	Auffälligkeiten bezüglich anderer Variablen . . . . .	52
4.5	Bedeutung und Konklusion . . . . .	53
4.6	Limitation und Ausblick . . . . .	55
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>Literatur</b>	<b>59</b>
	<b>Anhang</b>	<b>67</b>
<b>A</b>	<b>Studienpatienten</b>	<b>A 1</b>
<b>B</b>	<b>Dokumente zum Studienablauf</b>	<b>B 3</b>
B.1	Patienteninformation . . . . .	B 3
B.2	Einwilligungserklärung . . . . .	B 6
B.3	Flyer für Ambulanzen . . . . .	B 8
<b>C</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>C 9</b>
<b>D</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>D 13</b>
<b>E</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>E 15</b>
<b>F</b>	<b>Danksagung</b>	<b>F 17</b>
<b>G</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>G 19</b>



# 1 Einleitung

## 1.1 Motivation

Das Konzept der Immuncheckpointblockade (ICB) hat in den vergangenen Jahren zu einem Paradigmenwechsel bei der Behandlung fortgeschrittener Krebserkrankungen geführt [1]. Sie stellt eine wesentliche Erweiterung der therapeutischen Möglichkeiten von zumeist prognostisch ungünstigen Tumorerkrankungen dar, durch die ein Teil der Patienten einen signifikanten Überlebensvorteil gewinnen konnte [2, 3].

Die Patienten profitieren jedoch sehr unterschiedlich von der Therapie mit einem Immuncheckpointinhibitor (ICI), und ein Teil spricht schlecht oder gar nicht auf diese an. Zugleich tragen jedoch auch diese Patienten das Risiko der zwar nicht häufigen, aber zum Teil schweren Nebenwirkungen einer Immuntherapie [2]. Auch die hohen ökonomischen Kosten dieser Therapieform können nicht außer Betracht gelassen werden [4]. Umso problematischer ist es, Patienten weiterhin nicht zuverlässig erkennen zu können, die eine hohe Chance auf einen Erfolg einer ICB haben. Verlässliche prädiktive Marker sind also dringend erforderlich.

Growth Differentiation Factor 15 (GDF-15) besitzt immunmodulierende Eigenschaften und wird derzeit selbst als weiterer Immuncheckpoint diskutiert. Möglicherweise könnte es auch einen Einfluss auf die Wirkung einer ICB haben [5].

Diese Arbeit untersucht, ob GDF-15 mit dem Therapieergebnis einer ICB zusammenhängt. Dadurch soll die durchgeführte Studie Hinweise liefern, ob der GDF-15-Spiegel in Verbindung mit anderen Markern die Vorhersage eines Therapieergebnisses einer ICB verbessern könnte.

## 1.2 Immuncheckpointblockade

Die Haupterrungenschaft der Krebstherapie der letzten Jahren scheint fast unbestritten die Einführung der T-Zell gerichteten Immunmodulation, die die Immuncheckpoints Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4) und Programmed Cell Death Protein-1 (PD-1) oder PD-L1 blockiert [6]. Für diesen Erfolg erhielten die Wissenschaftler James Allison und

Tasaku Honjo, die einen entscheidenden Beitrag zur Erforschung des Konzepts einer ICI-basierten Immuntherapie geleistet haben, 2018 den Nobelpreis für Medizin [7].

Der erste ICI wurde 2011 mit Ipilimumab, einem Anti-CTLA-4-Antikörper, für die Behandlung von nicht resezierbarem und/oder metastasiertem malignem Melanom zugelassen. Dies war der Beginn dieser sich schnell entwickelnden Generation von Tumortherapien, den Immuntherapien [8]. Bis Oktober 2019 wurden global über 70 Zielmoleküle, die die T-Zell-Aktivität modulieren, in mehr als 3400 klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit und Verträglichkeit geprüft [9].

Die ICB hat als Nebenwirkungen jedoch auch ungewollte Konsequenzen ihres Funktionsmechanismus. Dazu gehören Autoimmunerkrankungen und Nebenwirkungen, die an Haut, Magen-Darm-Trakt, Leber und im endokrinen System zu beobachten sind. Wie zum Beispiel (z. B.) am häufigsten Pruritus, Exantheme, Nausea, Diarrhoe und Schilddrüsenfehlfunktionen [10].

Von dieser Therapieform profitiert jedoch ein Teil der Patienten gar nicht. Also sollten insbesondere vor dem Hintergrund ihrer teils schweren Nebenwirkungen nur Patienten diese Therapieform erhalten, die damit wirksam behandelt werden können.

## 1.2.1 Wirkungsweise

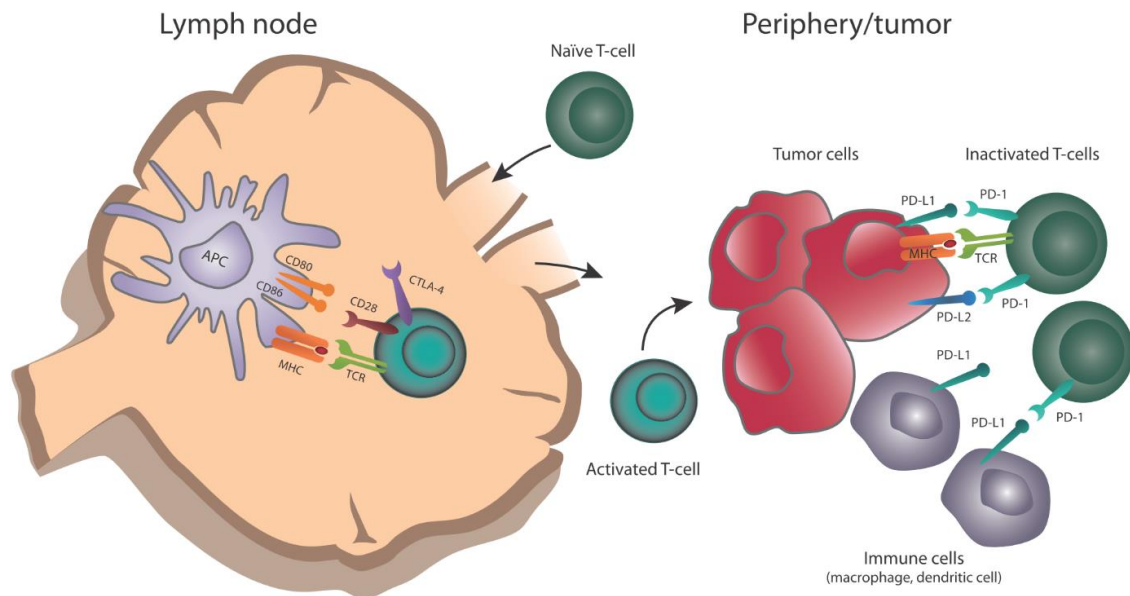
### 1.2.1.1 Immuncheckpoints

Immuncheckpoints stellen wichtige Regelmechanismen zur Regulation der Immunantwort dar [11]. Kostimulatorische und koinhibitorische Immuncheckpoints sind für die ausgewogene Funktion von T-Zellen wichtig. Immuncheckpoints sind essenziell für die Einleitung einer effektiven Immunantwort, aber auch für die Verhinderung von Autoimmunerkrankungen durch z. B. hemmende Signale zwischen den Zellen [2]. Die Wirkungsweisen der Checkpoints unterscheiden sich. Das Immuncheckpoint-Molekül CTLA-4 (auch bekannt als Cluster of differentiation 152) hemmt z. B. die Interaktion zwischen T-Lymphozyten und den antigenpräsentierenden dendritischen Zellen. PD-1, auch bekannt als CD279, inhibiert dagegen zusätzlich die Interaktion der T-Lymphozyten mit den Tumorzellen.

### 1.2.1.2 Immunevasion

Tumorzellen können sich mit den passenden Liganden dieser inhibierenden Immuncheckpoints bedienen und hemmen die T-Lymphozyten. Sie entziehen sich somit einer Erkennung durch das Immunsystem und erreichen eine Immunresistenz [12]. Dieser Mechanismus wird auch als Immunevasion bezeichnet und ist einer der grundlegenden Eigenschaften von Tumorzellen [13].

Ein Beispiel dieser Interaktion ist, wie in Abbildung 1.1 dargestellt, die Aktivierung des



**Abbildung 1.1 Rolle von CTLA-4 und PD1/PD-L1 bei der Immunantwort auf Tumorzellen.** "Naive T-Zellen werden aktiviert durch Antigenpräsentation von Antigen-präsentierenden Zellen (APC) im Zusammenhang mit einer MHC-Erkennung (Signal 1) und einem kostimulatorischen Signal durch Bindung von CD28 an B7 (CD80/86) (Signal 2). Kurz nach der Aktivierung regulieren T-Zellen CTLA-4 hoch, und durch Bindung von CTLA-4 an CD80 beziehungsweise (bzw.) CD86 wird die T-Zell-Aktivierung begrenzt. Aktivierte T-Zellen wandern in die Peripherie und treffen auf Tumorzellen. Nach längerer Aktivierung wird auf T-Lymphozyten PD-1 exprimiert, und durch Bindung an PD-1-Liganden (PD-L1 und PD-L2) auf Tumorzellen oder Immunzellen resultiert eine Inaktivierung der T-Zellen, und die Antitumorreaktion wird gehemmt.“ Abbildung aus *Oncotarget* 6.6 (2015) [14]. Text aus *Zeitschrift für Rheumatologie* 76 (2017) [2]. MHC „Major Histocompatibility Complex“, PD-1 „Programmed cell death-1“, TCR „T cell receptor“ Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Jason J. Luke.

PD-1-Rezeptoren auf den T-Lymphozyten durch dessen Bindung mit den Liganden PD-L1 und PD-L2 auf den Tumorzellen. Die Aktivierung führt dazu, dass der T-Lymphozyt die Tumorzelle nicht angreift und sich keine Immunreaktion gegen die Tumorzelle entwickelt [2].

### 1.2.1.3 Immuncheckpoint-Inhibitoren

ICI blockieren die inhibitorischen Signale zwischen Tumorzelle und T-Zelle, indem sie z. B. die Bindung der PD-1-Moleküle der Tumorzelle an die PD-L1-Moleküle der T-Lymphozyten vereiteln. Die Tumorzelle kann nun keine immunsupprimierende Signale mehr weitergeben und kann dadurch von dem Immunsystem wieder als „fremd“ erkannt und angegriffen werden. ICI wirken also nicht durch einen direkten Effekt auf die Krebszellen, wie z. B. Chemotherapeutika, sondern über eine Aktivierung des körpereigenen Immunsystems (v.a. tumorspezifischer zytotoxischer T-Lymphozyten) [8].

Eine Übersicht der momentan zugelassenen ICI gibt Tabelle 1.1 wieder. Insbesondere

PD1/PD-L1-Antikörper finden heute auch in der Monotherapie Anwendung im klinischen Alltag. Diese wurden zur Therapie der Patienten, die in dieser Arbeit untersucht wurden, verwendet.

**Tabelle 1.1** Zugelassene Indikationen für Checkpoint-Inhibitoren (Stand 2019, angelehnt an [15])

Zugelassen	Wirkstoff	Zielstruktur <sup>a</sup>	Indikation <sup>b</sup>
in EU	Ipilimumab	CTLA-4	MM, RCC
	Nivolumab	PD-1	MM, NSCLC, RCC, HL, HNSCC, UC
	Pembrolizumab	PD-1	MM, NSCLC, HL, HNSCC, UC
	Avelumab	PD-L1	Merkelzell-CA
	Atezolizumab	PD-L1	UC, NSCLC
	Durvalumab	PD-L1	NSCLC
in USA	Cemiplimab	PD-1	SCC

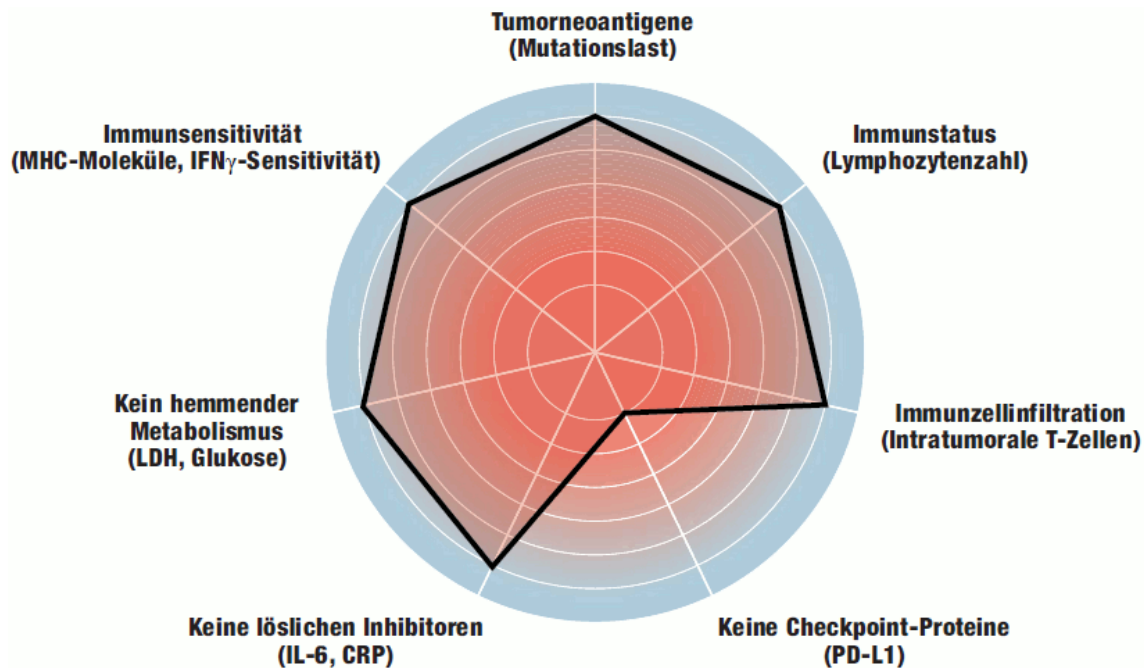
<sup>a</sup> CTLA-4 = Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4; PD-1 = Programmed Cell Death Receptor 1; PD-L1 = Programmed Cell Death Ligand 1.

<sup>b</sup> CA = Karzinom; MM = Malignes Melanom; NSCLC = nicht kleinzelliges Bronchialkarzinom; RCC = Nierenzellkarzinom; HNSCC = Tumore des Kopf-Hals-Bereichs; HL = Hodgkin-Lymphom; UC = Urothelkarzinom; SCC = Plattenepithelkarzinom.

### 1.2.2 Validierte und potenzielle prädiktive Biomarker

Zwar erzielt die ICB große Erfolge im letzten Jahrzehnt, doch sprechen nur ca. 20-30% der Patienten auf die Therapie mit ICI an [18]. Auch variiert das Therapieergebnis zwischen den unterschiedlichen Tumorentitäten stark [1]. Die aktuelle Herausforderung ist Patienten vor Therapiebeginn identifizieren zu können, die von ICI profitieren, und unnötige Nebenwirkungen und Kosten zu vermeiden.

Hierzu ist es wichtig, robuste prädiktive Biomarker zu identifizieren [18]. Diese könnten einen Schlüsselschritt in der Forschung zu ICI darstellen [1], da die bisherigen bekannten Biomarker das Therapieergebnis nur unzureichend vorhersagen können. Aktuell werden große Anstrengungen unternommen, die Forschung in diesem Bereich zwischen verschiedenen Arbeitsgruppen besser zu koordinieren und dadurch effizienter zu gestalten. Daran beteiligen sich inzwischen sehr viele Organisationen, wie das National Cancer Institute (NCI), Cancer Immunologic Data Commons (CIDC), The Partnership for Accelerating Cancer Therapies (PACT), als auch Non-Profit Organisationen wie das Bill & Melinda Gates Medical Research Institute [18].



**Abbildung 1.2 Immunparameter für eine personalisierte Checkpoint-Inhibitor-Therapie.**

Das Netzdiagramm zeigt sieben Parameter, die die Interaktion zwischen dem Tumor und dem Immunsystem darstellen und für die bereits Biomarker bekannt sind oder plausibel erscheinen. Gewünschte Bereiche sind blau gekennzeichnet, unerwünschte Bereiche mit kontinuierlicher rötlicher Färbung. Die schwarze Linie zeigt zur Veranschaulichung die Werte eines möglichen Patienten. CRP = C-reaktives Protein, IFN = Interferon, IL-6 = Interleukin-6, MHC = Major Histocompatibility Complex, LDH = Lactat Dehydrogenase, PD-L1 = Programmed cell death ligand-1

Abbildung aus Deutschem Ärzteblatt 2019 [16]. Diese entstand modifiziert nach Blank CU, „The Cancer Immunogramm“ aus Science 2016 [17] Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Christian Blank.

Aufgrund der Komplexität der Immunantwort und Tumorbiologie erscheint es unwahrscheinlich, dass am Ende ein Biomarker alleine ausreicht, um ein Therapieergebnis vorherzusagen zu können. Wahrscheinlicher ist eine Kombination aus Parametern des Tumors und der Immunantwort. Dazu gehören unter anderem Informationen über die Proteinexpression und aus einer Genom- und Transkriptom-Analyse [19]. Es ist also nicht nur die Information über die Tumorzelle selbst, sondern diese mit ihrer immunologischen Umgebung entscheidend [6].

Es gibt verschiedene Kandidaten, die sich als prädiktiver Biomarker eignen könnten. Dazu gehört z. B. die Expression von PD-L1 auf den Tumorzellen des Patienten, die mit PD-1/PD-L1-Inhibitoren therapiert werden. Diese Untersuchung wird in vielen Kliniken bereits eingesetzt. Auch eine hohe Mikrosatelliten-Instabilität (MSI) (engl. MSI-height) und/oder DNA Mismatch-Repair-Deficient (dMMR) scheint bei soliden Tumoren, die mit Pembrolizumab behandelt werden, ein hilfreicher Marker für Therapieerfolg zu sein. Und

nicht zuletzt gibt auch die Tumormutationslast (engl. Tumor mutational burden) Aufschluss darüber, wie wahrscheinlich ein Ansprechen auf die ICB ist, welche aber wohl nie allein ausschlaggebend sein wird. [18, 1]

Über diese genannten hinaus wird an zwar noch weniger etablierten, aber aussichtsreichen Markern geforscht. Ein Therapieerfolg bei der Behandlung mit Pembrolizumab und Nivolumab scheint stark zu korrelieren mit einer hohen Infiltration von CD8-positiven T-Zellen in das Tumorgewebe bei gleichzeitiger hoher Expression von PD-1 und CTLA-4. Auch Serummarker können hilfreich sein. Laktatdehydrogenase (LDH) scheint negativ mit der Prognose zu korrelieren. Auch die absolute und relative Höhe sowie Änderung der Immunzellen (Lymphozyten und Monozyten) korreliert mit der Prognose. Die PD-L1-Expression wird in den meisten Tumoren unter anderem durch Interferone induziert. Ein hoher Spiegel von Interferonen, vor allem in Kombination mit der PD-L1-Expression, korrelierte in einer Studie mit einer besseren Ansprechrate. [1]

Um Patienten besser auswählen zu können, die am ehesten von einer Therapie profitieren, und sich für eine bestimmte Checkpoint-Therapie entscheiden zu können, wird von Blank CU ein Immunogramm empfohlen [17]. Eine Zusammenfassung der in Betracht zu ziehenden Parameter zeigt das Immunogramm in der Abbildung 1.2. Trotz der bisherigen Erkenntnisse bedarf es noch großen weiteren Forschungseinsatzes.

GDF-15 ist ein viel erforschter prognostischer Marker bei Krebserkrankungen, jedoch in Bezug auf seinen Einfluss bei einer ICB noch wenig erforscht und soll als interessanter Kandidat in dieser Arbeit untersucht werden.

## 1.3 GDF-15

Growth Differentiation Factor 15 (GDF-15) ist auch unter weiteren Namen bekannt wie u.a. Macrophage Inhibitory Cytokine 1 (MIC-1), Non-steroidal anti-Inflammatory Drug-inducible Gene (NAG-1), Prostate-derived Factor (PDF), Placental Transforming Growth Factor- $\beta$  (pTGF- $\beta$ ) oder Placental Bone Morphogenetic Protein (PLAB) [5]. Es ist Teil der Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Superfamilie [20].

In physiologischem Zustand ist GDF-15 in kaum einem Gewebe nachweisbar, aber in vielen Zelltypen durch Stress induzierbar. Besonders hohe Spiegel von GDF-15 stehen meist im Zusammenhang mit einer krankhaften Situation oder Stress. Dazu gehören unter anderem Entzündungen (z. B. Sepsis), Myokardinfarkt oder vor allem Krebserkrankungen. Auch bei Autoimmunerkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis oder Diabetes Mellitus Typ 1 werden oft erhöhte Spiegel gemessen. In der Schwangerschaft ist GDF-15 in hohen Konzentrationen in der Plazenta zu finden, wo ihm wahrscheinlich eine schützende Funktion des Fetus vor den T-Zellen der Mutter zukommt. Ein dezenter Anstieg von

GDF-15 ist auch mit dem Alter erkennbar [5]. GDF-15 ist auch häufig in Bezug auf seinen hohen prognostischen Wert bei Erkrankungen untersucht. Diese Eigenschaft könnte in Verbindung mit seiner immunregulierenden Funktion stehen [5].

Möglicherweise dient GDF-15 sogar als Immuncheckpoint und könnte dadurch selbst zu einem Angriffspunkt einer Krebstherapie werden [5].

### 1.3.1 Bekannte physiologische Bedeutung

Von GDF-15 sind Einflüsse bekannt auf die Appetitregulation, den Metabolismus, das Überleben von Zellen und Gewebe, und als Mediator für eine Immuntoleranz [5]. Eine physiologische Rolle von GDF-15 ist es, den semi-allogenen Fetus wahrscheinlich durch Hemmung der T-Zellen vor dem mütterlichen Immunsystem zu schützen [21]. Darüber hinaus verhindert GDF-15 auch andere Funktionen des Immunsystems. Am besten ist seine Wirkung auf die Antigenpräsentation durch dendritische Zellen [22, 23] und auf die Immunzellen untersucht [24]. GDF-15 schützt Gewebe vor massiver Entzündung und wird unter verschiedenen pathologischen Bedingungen exprimiert, in denen es kontextabhängig wirkt. GDF-15 nimmt in verschiedenen Situationen also unterschiedliche Rollen ein [5].

Von besonderem Interesse ist GDF-15 auf Grund seiner Rolle bei der Induktion von Tumorkachexie und Gewichtsverlust über einen im Hirnstamm sitzenden Rezeptor GFRAL (Glial cell derived neurotrophic factor family receptor alpha-like). Dort scheint GDF-15 einen Appetit-unterdrückenden Effekt zu haben [25] und ist daher, wie auch sein Rezeptor, ein potentieller therapeutischer Angriffspunkt bei Übergewicht und Kachexie geworden [26].

Weiterhin sind jedoch viele Funktionen und die genauen physiologischen Rollen unklar und die erwiesenen zum Teil nicht mit den bekannten Mechanismen erklärbar. Besonders wichtig erscheint es, die nicht-metabolische Wirkung von GDF-15 besser zu verstehen [5]. Eine besondere Rolle erfüllt GDF-15 als potenzieller Biomarker bei verschiedenen Erkrankungen. Es scheint ein unabhängiger Marker bei Herzinsuffizienz zu sein [25]. Chen et al. konnten mit GDF-15 einen möglichen Prädiktor für Präeklampsie in der Schwangerschaft identifizieren [27]. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass GDF-15 ein möglicher Marker für eine zukünftige Insulinresistenz und abnorme Glukosespiegel sein könnte [28, 29]. Auf die Rolle als Biomarker bei Tumorerkrankungen wird in Kapitel 1.3.2.1 eingegangen.

#### 1.3.1.1 Biosynthese

GDF-15 ist ein Zytokin, dessen Ausschüttung durch verschiedene Entzündungs- und Stress-assoziierte Proteine induziert werden kann. Dazu gehören Interleukin-1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ),

Interleukin-2 (IL-2), Tumor Nekrose Faktor (TNF)- $\alpha$ , Angiotensin II, Macrophage Colony-Stimulating-Factor (M-CSF), and TGF- $\beta$ [5]. Auch das Tumor Suppressor Protein p53 kann GDF-15 hochregulieren [30].

GDF-15 wird teils intrazellulär prozessiert und meist als Pro-Protein sezerniert. Dabei bleibt die Pro-Domäne an der Extrazellulären Matrix gebunden, wodurch stromale Speicher aufgebaut werden können, die dann durch Proteolyse schnell freigesetzt werden können und einen raschen Anstieg von GDF-15 ermöglichen. GDF-15-Vorläufer können dadurch deutlich schneller freigesetzt werden als das prozessierte GDF-15 [31]. Die Pro-Domäne in der extrazellulären Matrix wird auch für den immunhistochemischen Nachweis von GDF-15 im Geweben genutzt.

Die Abspaltung von GDF-15 kann z. B. durch die Proproteinkonvertasen (PCSK) 3, 5 oder 6 erfolgen. Diese sind dadurch auch in den Fokus therapeutischer Angriffsziele gerückt [25]. In der Plazenta ist eine Abspaltung auch durch die Matrix-Metalloproteinase-26 möglich [32].

### **1.3.2 Prädiktiver und prognostischer Wert bei Tumorerkrankungen**

#### **1.3.2.1 Biomarker bei Krebserkennung und Progression**

GDF-15 ist ein vielversprechender Marker für die Erkennung von Krebs und eines progressiven Verlaufs einer Tumorerkrankung. GDF-15 wurde als Biomarker zur Diagnose eines kolorektalen Karzinoms als auch für dessen Screening vorgeschlagen [33]. Es ist auch geeignet, eine Pankreas-Raumforderung als Pankreas-Adenokarzinom zu identifizieren und von einer Pankreatitis zu unterscheiden. Hierbei eignete es sich sogar besser als z. B. CA19-9 [34].

Bei vielen Krebsentitäten bestehen auch Korrelationen zwischen einem schnellen Fortschreiten der Erkrankung und GDF-15. Dazu gehören das kolorektale Karzinom, Magenkarzinom, hepatozelluläres Karzinom, nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom, Urothelkarzinom, Ovarialkarzinom, Melanom, Mammakarzinom, multiples Myelom und Mundbodenkarzinom (zusammengefasst nach [5]). Außerdem ist es ein vielversprechender Marker für ein Rezidiv bei Leber-, Ovarial- und frühem Lungenkarzinom [35, 36]. GDF-15 ist unter anderem auch signifikant erhöht bei metastasiertem Prostata-, Brust- und Darmkrebs [37].

#### **1.3.2.2 Prognostischer Wert**

GDF-15 hat in verschiedenen Erkrankungen einen hohen prognostischen Wert. Inzwischen konnte in zahlreichen Studien ein signifikanter Zusammenhang belegt werden zwischen GDF-15 und einem schlechteren Gesamtüberleben bei soliden Tumoren, als auch bei vorhandener Metastasierung [5].

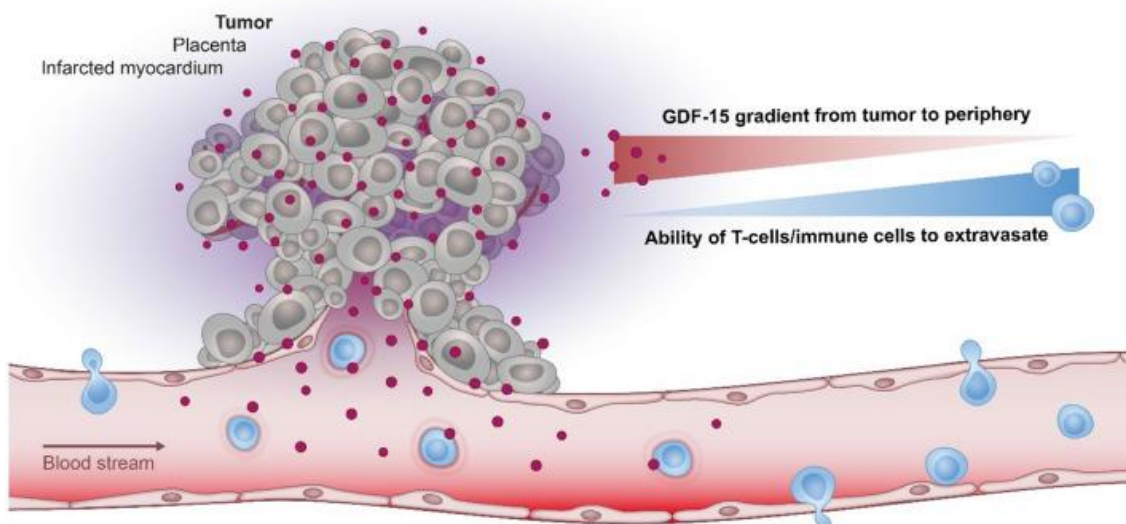


Beispielsweise konnten Li C et al. beim kolorektalen Karzinom zeigen, dass GDF-15 mit einem schlechterem Gesamtüberleben assoziiert ist, bei einem gepoolten Hazard Ratio von 2.09 (95% Konfidenzintervall: 1.47-2.96) [33]. Ein niedrigerer GDF-15-Spiegel, der in Folge einer Gensequenzvariante des GDF-15-Gens entstanden war, zeigte beim Prostatakarzinom sogar eine geringere Mortalität [38].

Die konsequente negative Korrelation zwischen GDF-15-Expression und dem Überleben von Patienten hängt wahrscheinlich damit zusammen, dass bei diesen Patienten das Immunsystem nicht angemessen funktioniert [39].

### 1.3.3 Mitwirkung an Immunevasion

Immunevasion ist eine charakteristische und wichtige Eigenschaft von Tumorzellen, und es wird davon ausgegangen, dass GDF-15 dazu beiträgt und die Immunreaktion auf Tumorgewebe verändert. Entsprechende Hypothesen werden inzwischen durch viele weitere Untersuchungen unterstützt. Wahrscheinlich verhindert GDF-15 zu diesem Zweck die Aktivierung von T-Zellen bzw. hemmt die Aktivierung zytotoxischer T-Lymphozyten durch dendritische Zellen [22]. Es werden weitere verschiedene Hypothesen diskutiert, wie genau GDF-15 seinen Effekt auf die Immunzellen vermittelt, die sich zum Teil auch



**Abbildung 1.3 Immunmodulierende Eigenschaft von GDF-15** GDF-15 korreliert unter verschiedenen pathologischen Zuständen negativ mit der Fähigkeit von T-Lymphozyten, Tumorgewebe oder auch infarziertes Myokard infiltrieren zu können. Die bekannteste physiologische Expression von GDF-15 liegt in der Plazenta, dessen Funktion sich dort zum Schutz des (semi-allogenen) Fetus entwickelt hat, indem es eine schützende Barriere an der Plazenta-Fetus-Schranke aufbaut und den Fetus dadurch vor einwandernden T-Zellen der Mutter schützt. Abbildung und Text übersetzt aus *Frontiers in Immunology* 11 (2020) von Wischhusen et al. [5] Mit freundlicher Genehmigung von Jörg Wischhusen.

ergänzen könnten. Einigkeit besteht jedoch darin, dass GDF-15 die Immunantwort auf verschiedenen Ebenen hemmt [5]. Die immunmodulierende Eigenschaft von GDF-15 am Tumorgewebe ist in der Abbildung 1.3 dargestellt.

Es erscheint wahrscheinlich, dass GDF-15 die Tumorentstehung und das Überleben der Tumorzellen auch über das Mitwirken an der Immunevasion hinaus beeinflusst. Es wird angenommen, dass GDF-15 bei der Epithelialen-mesenchymalen Transition, der Angiogenese, Metastasierung, Tumorzellapoptose, Chemo-Resistenz und frühen Tumorgenese mitwirkt [40].

Roth et al. konnten in einer Studie zeigen, dass shRNA-vermittelte Herunterregulation von GDF-15 in Glioblastomen die Infiltration des Tumors mit T-Zellen steigerte, die Immunantwort verbesserte und das Überleben verlängerte [24]. Die immunologischen Daten eines Tumors sind sehr bedeutend für seine Prognose. Immunzelltyp, -dichte und ihre Lokalisation im Tumor konnten das Überleben von Patienten im kolorektalen Karzinom sogar besser vorhersagen als eine klinisch histologische Untersuchung [39]. GDF-15 ist dadurch ein attraktives Ziel für Tumorthérapien geworden mit dem Ziel, durch dessen Hemmung eine Immunantwort gegen Tumorzellen zu fördern.

#### 1.3.4 Im Kontext von Immuncheckpoints

In einer Studie, in der mögliche Biomarker für eine Resistenz gegenüber einer Anti-CTLA-4-Therapie (Ipilimumab) bei malignem Melanom gesucht wurden, wurde GDF-15 als eines von sechs Proteinen identifiziert, deren Vorkommen bei Verstorbenen in den GDF-15-Messungen vor ihrem Tod konstant erhöht war [41].

Die Rolle von GDF-15 als potenzieller Biomarker für den Erfolg einer ICB muss weiter erforscht werden. Es mehren sich bereits Hinweise, dass Krebsentitäten mit den höchsten GDF-15-Spiegeln wahrscheinlich kaum von einer Single-Agent Immuntherapie profitieren [42, 5].

Eine ICB wirkt auch schlecht, wenn vor der Therapie nicht bereits T-Zellen im unmittelbaren Bereich des Tumors liegen [43, 44, 45]. Diese T-Zellinfiltration scheint ein wichtigerer Prädiktor für das Therapieergebnis als die PD-1/PD-L1-Expression oder das Tumor Mutational Burden zu sein [5, 44].

Auf Basis dieser Erkenntnis erscheint GDF-15 als attraktives Therapieziel, um durch dessen gezielte Hemmung eine verbesserte Immunantwort und eine bessere T-Zellinfiltration zu erreichen. Möglicherweise könnte eine Hemmung von GDF-15 einen Wechsel von einem „kalten“ Tumor zu einem „heißen“ Tumor mit eingewanderten T-Zellen provozieren [46, 39].

Eine junge Studie hat gezeigt, dass die Leber beta-adrenerg durch GDF-15 stimuliert wird (GDF-15/GFRAL/RET-Signalkaskade), hepatische Triglyceride freizusetzen, welche

dann kardioprotektiv wirken [47]. Sollte festgestellt werden, dass GDF-15 Krebsgewebe analog abschirmen kann, könnten Antikörper gegen GDF-15 oder GFRAL die Wirkung von Immun-, Chemo- oder Radiotherapie verbessern [5].

GDF-15 ist ein Faktor, der potent genug ist, einen semi-allogenen Fetus vor Angriffen des Immunsystems der Mutter zu schützen. Daher besteht eine große Hoffnung, durch Blockierung von GDF-15 eine Immunantwort bzw. die Wirkung einer ICB gegenüber Neoantigen-tragenden Tumorzellen zu verbessern [48].

## 1.4 Zielsetzung

Bisher ist es nicht gelungen, verlässliche Marker für die Vorhersage des Therapieerfolgs einer ICB zu identifizieren. Wahrscheinlich benötigt man eine Kombination aus Informationen über den Tumor und verschiedene weitere Merkmale der Patienten. Die Rolle von GDF-15 ist in diesem Zusammenhang nicht ausreichend geklärt. GDF-15 hat immunmodulierende Eigenschaften, die mit dafür verantwortlich sein könnten, wenn Tumorgewebe durch das Immunsystem nicht angegriffen wird und damit eine ICB weniger wirksam sein könnte.

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel und dem Therapieergebnis einer ICB besteht. Dafür wurde der GDF-15-Spiegel von Patienten mit soliden Tumoren, die eine ICB erhielten, vor Therapiebeginn und unter der Therapie untersucht. Für die Bewertung des Therapieergebnisses wurden die radiologische Einteilung nach Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) und die klinische Präsentation der Patienten zu Hilfe genommen. Es wurde in zwei Hypothesen untersucht, ob sich ein Zusammenhang des GDF-15-Spiegels vor Therapiebeginn mit dem Therapieergebnis einer ICB zeigte und ob ein Zusammenhang der Änderung des GDF-15-Spiegels unter Therapie mit dem Therapieergebnis besteht.

Die Studie sollte Hinweise liefern, ob größer angelegte Studien, z. B. nach Entitäten getrennt, von GDF-15 im Zusammenhang mit der Wirksamkeit einer ICB lohnenswert sind. Die Identifizierung verlässlicher Marker ist dringend nötig, um unwirksam behandelten Patienten die potentiell schweren Nebenwirkungen einer ICB zu ersparen und hohe ökonomische Kosten für das Gesundheitssystem zu vermeiden. Gleichzeitig muss man jedoch den Patienten, die mit einer ICB ihr Überleben signifikant verlängern und zum Teil eine Complete Remission (CR) erreichen können, diese Therapieform auch zukommen lassen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die dieser Arbeit zugrunde liegende Studie ist eine prospektive, nicht-interventionelle Studie. In ihr wurde bei Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen kurz vor Therapiebeginn einer ICB ihr GDF-15-Spiegel gemessen und wenige Wochen später die GDF-15-Änderung im Verlauf unter der ICB bestimmt. Ziel war es, Hinweise zur Eignung von GDF-15 als prädiktiven Wert bei einer ICB zu suchen.

Folgende Hypothesen wurden untersucht:

1. Zwischen dem GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn und dem Therapieergebnis einer ICB besteht ein Zusammenhang.
2. Zwischen der Änderung des GDF-15-Spiegels unter Therapie bzw. dessen Zu- oder Abnahme besteht mit dem Therapieergebnis einer ICB ein Zusammenhang.

Diese Hypothesen sollten auch auf Auffälligkeiten bezüglich verschiedener Entitäten, vorhandener Fernmetastasierung und Unterschieden normal- oder übergewichtiger Patienten untersucht werden.

Unabhängig von der ICB wurde der GDF-15-Spiegel auch im Zusammenhang mit Patientenmerkmalen wie dem Alter, Geschlecht, dem Body-Mass-Index (BMI), vorhandener Fernmetastasierung oder einer aufgetretenen schweren Autoimmunreaktion untersucht.

Die Bedingungen für den Studieneinschluss von Patienten waren:

- eine fortgeschrittene, solide Tumorerkrankung, für die eine ICB geplant ist
- mindestens einer der für die Therapie des Patienten verwendeten ICI musste die PD1-/PD-L1-Achse betreffen
- ein Mindestalter von 18 Jahren mit schriftlichem Einverständnis für die Teilnahme an einer Biomarkeruntersuchung

Für die Berücksichtigung in der folgenden statistischen Auswertung waren die zusätzlichen Einschlusskriterien:

- eine im Verlauf mindestens zweimal erfolgte Gabe eines ICI
- vorhandene GDF-15-Messung vor Therapiebeginn und mindestens einmalige GDF-15-Verlaufsmessung unter Therapie

## 2.2 Ethikvotum und Verantwortung

Die Studie wurde 2017 von der Ethikkommission genehmigt und von drei Einrichtungen organisiert und ausgeführt:

- der Early Clinical Trial Unit (ECTU) des Comprehensive Cancer Center (CCC) Mainfranken
- dem Schwerpunkt Medical Oncology der Medizinischen Klinik II (beide am Zentrum für Innere Medizin (ZIM) der Universitätsklinik Würzburg angesiedelt)
- sowie der Experimentellen Tumorimmunologie der Frauenklinik des Universitätsklinikums Würzburg

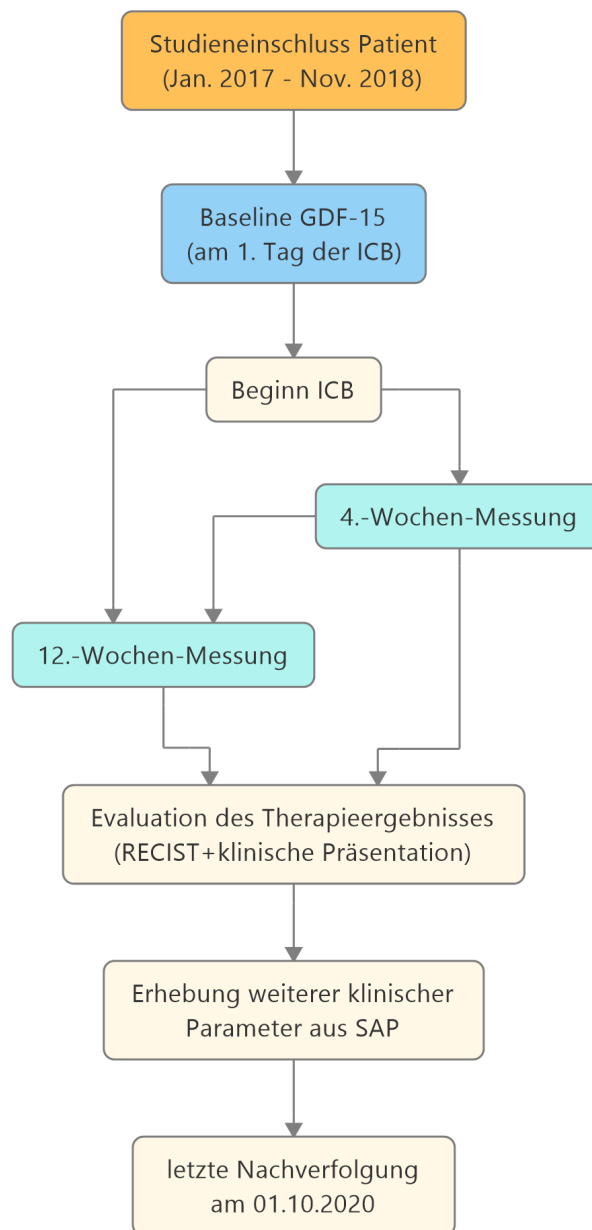
Die im Studienprotokoll genannten verantwortlichen Ärzte und Wissenschaftler waren Prof. V. Kunzmann, Prof. Dr. J. Wischhusen und Dr. M.-E. Goebeler. Zusätzlich waren zahlreiche Mitarbeiter der Universitätsklinik Würzburg aus verschiedenen anderen Abteilungen an der Studie beteiligt, da es sich bei dem Studienkollektiv um Patienten aus verschiedenen onkologischen Fachbereichen handelte.

Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Es wurde von der Ethik-Kommission der Universität Würzburg eine Genehmigung mit dem Aktenzeichen 15/18-me erteilt.

Finanziert wurde die Studie aus allgemeinen Haushaltsmitteln der beteiligten Abteilungen. In Rahmen der Studie mit dem vollständigen Titel “Biomarker bei Immuntherapie (BioImmun): eine nicht-interventionelle klinische Studie zur Analyse von verschiedenen immunologischen Serumbiomarkern bei Patienten mit fortgeschrittenen malignen Tumorerkrankungen“ wurden auch die Serumspiegel von Mediatoren zytotoxischer T-Zellen bestimmt und die GDF-15-Serumspiegel von einem Patientenkollektiv mit Mammakarzinom bestimmt. Auf diese Untersuchungen wird in dieser Arbeit nicht eingegangen.

## 2.3 Studienablauf

Studienbeginn war Januar 2017. Die Rekrutierungszeit dauerte 23 Monate bis November 2018. In dieser Zeit konnten 47 Patienten rekrutiert werden, von denen 37 die im Abschnitt



**Abbildung 2.1** Studienablauf eines Patienten.

Die Studie wurde im Laufe des Rekrutierungszeitraums um die 4.-Wochen-Messung ergänzt. Diese wurde bei Progressive Disease (PD) und fehlender 12.-Wochen-Messung (überwiegend aufgrund Versterbens), als letzter gültiger Wert des Patienten in einem gepoolten Messwert unter Therapie genutzt.

2.1 genannten Kriterien erfüllten und in die Auswertung eingeschlossen wurden. Ende der Nachbeobachtungszeit war der 01.10.2020. Die längste Nachbeobachtungszeit war 44 Monate und 7 Tage, die kürzeste Nachbeobachtungszeit (im Falle des als letzten eingeschlossenen Patienten am 6.11.2018) 22 Monate und 25 Tage.

Die Studienteilnehmer wurden aus verschiedenen onkologischen Fachbereichen rekrutiert, die eine Behandlung mit ICI durchführen. Um Patienten aus den verschiedenen Fachbereichen rekrutieren zu können, wurden vorhandene Kontakte der ECTU in andere Klinikabteilungen genutzt und in Besprechungen bzw. im persönlichen Kontakt onkologisch tätige Ärzte auf die Studie aufmerksam gemacht. Diese leiteten die Information weiter, wenn ein Patient neu mit ICB behandelt werden sollte. Des Weiteren wurden Patienten direkt über die Studienambulanz der ECTU rekrutiert und eingeschlossen.

Die Studienteilnehmer wurden zunächst über den Inhalt und das nötige diagnostische Begleitprogramm der Studie informiert (siehe Anhang B.1). Wenn der Patient Interesse an einer Studienteilnahme hatte, schloss sich eine ausführliche Aufklärung und die schriftliche Einverständniserklärung an (siehe Anhang B.2). Die Patienten wurden darüber aufgeklärt, dass die Studie keinen Einfluss auf die Therapieentscheidung und das Ergebnis der Untersuchungen keine individuelle Bedeutung für den einzelnen Patienten hat. Jeder Patient erhielt eine anonymisierte Patientennummer, die keine Rückschlüsse auf seine Person erlaubt.

In der Abbildung 2.1 ist der Studienablauf eines einzelnen Patienten dargestellt. Nach Studieneinschluss erfolgten die Blutabnahmen für die GDF-15-Messungen zu den Zeitpunkten:

- Vor Therapie kurz vor 1. Gabe eines ICI:

Baseline

- Unter Therapie:

4.-Wochen-Messung (4.WM)

12.-Wochen-Messung (12.WM)

Die Termine fanden zeitlich orientiert an den ohnehin vorgesehenen Vorstellungen des Patienten an der Universitätsklinik statt, um die Compliance zu verbessern.

Zu Beginn des Rekrutierungszeitraums wurden nur die Messungen der Baseline (n = 47) und die 12.WM (n = 30) durchgeführt. Es zeigte sich jedoch, dass überproportional oft bei Patienten mit schwerem Verlauf und rascher Progression der Krebserkrankung keine Messungen mehr nach 12 Wochen durchgeführt werden konnten. Im Studienprotokoll war festgelegt, dass bei PD auch eine frühere GDF-15-Messung unter Therapie möglich sei. Die Studie wurde aufgrund einer anderen Forschungsfrage, die nicht in dieser Arbeit untersucht wird, um eine weitere Blutuntersuchung nach ca. der 4. Woche ergänzt. Diese 4.WM wurde bei Patienten mit PD und ohne vorhandene 12.WM als letzter gültiger Wert definiert und gemeinsam mit der 12.WM der anderen Patienten als gepoolter Messwert



unter Therapie (M.u.T.) ausgewertet. Für Patienten, bei denen eine 4.WM und eine 12.WM durchgeführt werden konnte, wurde die 12.WM für den M.u.T. verwendet:

Der gepoolte M.u.T. setzt sich zusammen aus:

4.WM n = 7 (bei PD und letztem gültigen Wert des Patienten) und

12.WM n = 30

Der gepoolte M.u.T. erlaubt es, Patienten mit schneller Progression bzw. Versterben in der Auswertung der Hypothesen zu berücksichtigen und eine Verzerrung durch Herausfiltern besonders schwerer Verläufe zu vermeiden. Daher ermöglicht er eine realistischere Auswertung von GDF-15 unter Therapie als eine Auswertung des 12.WM allein.

Nach Abschluss der Studie wurden die GDF-15-Spiegel und deren Veränderung unter Therapie im Zusammenhang mit dem Therapieergebnis der Patienten untersucht.

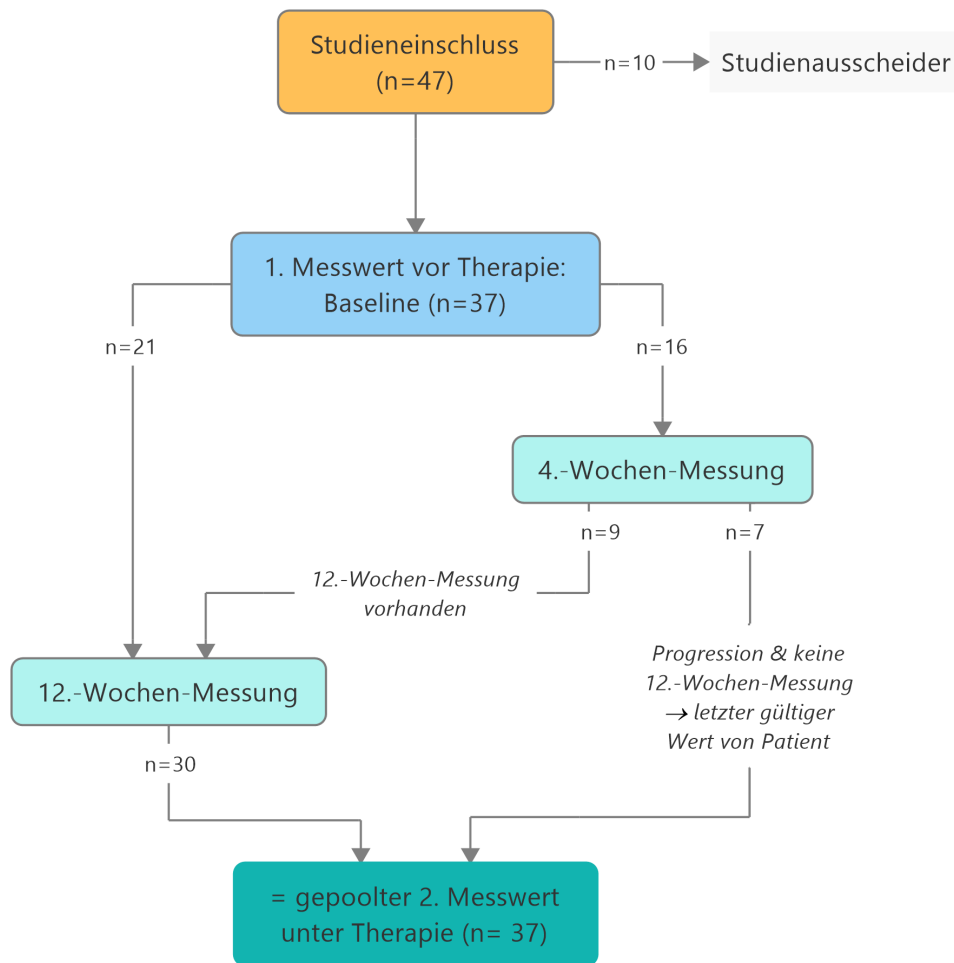
Das Therapieergebnis wurde nach ca. drei Monaten ICB wie folgt kategorisiert:

- Complete Remission (CR)
- Partial Remission (PR)
- Stable Disease (SD)
- Progressive Disease (PD)

Als Grundlage dieser Bewertung diente der Befund eines Radiologen mit einer Einstufung nach RECIST. In manchen Fällen gab es aus verschiedenen Gründen keine Bewertung nach RECIST. In einem solchen Fall diente der klinische Verlauf mit Einschätzungen der behandelnden Mediziner im Arztbrief als Grundlage der Bewertung des Therapieergebnisses. Für die meisten Fragestellungen war es sinnvoll, das Therapieergebnis dichotom einzuteilen in Therapieerfolg und Therapieversagen. Da bei Patienten mit fortgeschrittener Tumorerkrankung bereits ein Aufhalten der Erkrankung als Erfolg gesehen werden kann, wurde ein Therapieerfolg ab SD gewertet. PD wurde als Therapieversagen definiert.

## 2.4 Patientenkollektiv

Zielpopulation der Studie waren Patienten, die in der Universitätsklinik Würzburg im Zeitraum von Januar 2017 bis November 2018 auf Grund einer fortgeschrittenen soliden Tumorerkrankung das erste Mal eine ICB erhielten. Bei den Studienteilnehmern sollte es sich um Patienten verschiedener Tumorentitäten handeln. Es wurden Patienten mit kolorektalem Karzinom, Kopf-Hals-Tumoren (Kehlkopfkarcinom, Nasennebenhöhlenkarzinom,



**Abbildung 2.2** GDF-15-Messungen mit Patientenzahlen im Studienverlauf

Mundhöhlenkarzinom, Rachenkarzinom), Lungenkarzinom, Melanom, Ösophaguskarzinom, Ovarialkarzinom, Prostatakarzinom oder Urothelkarzinom eingeschlossen.

Es konnten 47 Patienten rekrutiert werden, die die in Abschnitt 2.4 genannten Bedingungen erfüllten.

Die Baseline vor Therapie, also der 1. Messwert von GDF-15, war von allen 47 Patienten vorhanden, von denen jedoch zehn Patienten vor einer 2. Messung aus der Studie ausschieden. Die Patientenzahl im weiteren Studienverlauf und die Zusammensetzung des gepoolten 2. Messwerts zeigt die Abbildung 2.2.

Bei 17 Patienten konnte keine 12.WM durchgeführt werden, da elf von Ihnen noch vor der geplanten 12.WM verstarben. Weitere Studienteilnehmer konnten oder wollten aus unterschiedlichen Gründen nicht mehr teilnehmen. Ein Patient schaffte es z. B. aus psychischen Gründen nicht mehr teilzunehmen, ein Teilnehmer konnte nicht mehr erreicht werden,

**Tabelle 2.1** Gründe fehlender 12.WM und potentieller Ersatz durch 4.WM

	vorzeitig verstorben	andere Gründe <sup>a</sup>	Summe
4.WM vorhanden	4	3	7
4.WM nicht vorhanden	7	3	10
Summe	11	6	17

<sup>a</sup> psychische/persönliche/unbekannte Gründe

und vier wollten aus persönlichen Gründen nicht mehr an der Studie teilnehmen. Tabelle 2.1 zeigt die Verteilung der Gründe bei fehlender 12.-Wochen-Messung. Alle Patienten mit fehlender 12.WM und vorhandener 4.WM hatten eine PD. Daher konnte die 4.WM laut Studienprotokoll als letzter gültiger Wert bei diesen sieben Patienten in den M.u.T. miteinbezogen werden, um einer Verzerrung der Ergebnisse durch Ausschluss schwerer Krankheitsverläufe entgegenzuwirken.

Die zehn Patienten ohne zweite GDF-15-Messung unter Therapie wurden in der Auswertung ausgeschlossen.

## 2.5 GDF-15-Bestimmung

### 2.5.1 Probengewinnung und Aufbereitung

Die Blutabnahmen fanden wie im Abschnitt 2.3 beschrieben einmal unmittelbar vor Therapiebeginn (Baseline), als auch unter Therapie (4.WM, 12.WM) statt. Diese wurden so geplant, dass sie zeitgleich zu ohnehin durchgeführten Blutabnahmen des Patienten stattfanden. Für die Messung des GDF-15-Spiegels wurde eine Serum-Monovette (ca. 10 ml) Blut des Patienten benötigt, die sofort nach der Abnahme in die ECTU des Universitätsklinikums Würzburg gebracht wurde. Dort fand die Aufbereitung der Probe statt.

Nach Ankunft in der ECTU wurde die Probe zunächst 10–15 min aufrecht stehen gelassen. Das koagulierte Blut wurde in sein Serum und Zellanteil getrennt, indem es im Anschluss 10 min bei  $3200 \frac{U}{min}$  und  $10^{\circ}C$  zentrifugiert wurde. Das so erhaltene Serum wurde nun durch Abpipettieren des Überstandes auf vier Aliquots à mindestens  $300 \mu l$  verteilt, die mit der vorher zugeordneten anonymisierten Patientenummer beschriftet wurden. Je nach Zeitpunkt der Messung des Patienten hatten die Aliquots verschiedene farbige Markierungen. So konnte das Risiko einer Verwechslung gesenkt werden. Die Probe wurde im Gefrierschrank der ECTU, dessen Temperatur täglich kontrolliert wird, bei  $-80^{\circ}C$  bis zur Messung im Labor der Experimentellen Tumorimmunologie an der Frauenklinik aufbewahrt.

### 2.5.1.1 Material für Probengewinnung und Aufbereitung

Die Tabelle 2.2 listet das benötigte Material zur Aufbereitung der Blutproben auf.

**Tabelle 2.2** Material zur Aufbereitung der Blutproben

Geräte	Hersteller
Serumröhrchen	Sarstedt
Aliquot 1,8 ml Fa. Nunc	Thermo Scientific
Pipette (100 – 1000 $\mu$ l)	Eppendorf
Zentrifuge Rotina 380 R	Hettich
Gefrierschrank - 80°C	Haider

## 2.5.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay

### 2.5.2.1 Durchführung

Im Labor der experimentellen Tumorimmunologie der Frauenklinik wurde ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) durchgeführt, genauer ein "Sandwich-ELISA". Dieser ermöglicht die Bestimmung des GDF-15-Spiegels im Blut der Patienten. Auf das grundlegende Prinzip eines ELISA wird hier nicht weiter eingegangen. Im Folgenden werden jedoch die für unsere Messungen durchgeführten Arbeitsschritte beschrieben.

Am Tag vor der Messung wurden die 96-Well-Mikrotiterplatten mit 100  $\mu$ l des Fangantikörper in Phosphate Buffered Saline (PBS) beschichtet ( $2 \frac{\mu$ l in PBS) und über Nacht bei 2 – 8 °C mit einer Folie versiegelt gelagert. Die Fangantikörper binden das Zielantigen GDF-15. Alle folgenden Schritte fanden bei Raumtemperatur statt. Am nächsten Tag wurden die Platten mit PBS 0,05 % Tween® gewaschen. Die Platten wurden drei Mal jeweils mit dem Puffer befüllt und danach auf saugfähigem Material ausgeklopft. Darauf folgte das Blocken der Platte mit 200  $\mu$ l der Reagenzverdünnungslösung (Reagent Diluent: PBS 1 % Bovine Serum Albumin (BSA)). Dies dauerte auf dem Plattenschüttler (Titramax 1000, Heidolph) bei 450 rpm zwei Stunden. Auch die folgenden Inkubationen fanden bei 450 rpm statt. Um eine mögliche Verfälschung des Endergebnisses zu verhindern, wurde BSA verwendet, das sich zwischen die Fangantikörper setzt und dort das Binden anderer Stoffe verhindert. Wieder erfolgte eine wie oben beschriebene Waschung drei Mal hintereinander. Die Serumproben wurden aufgetaut, mit dem Vortexer durchmischt und jeweils 40  $\mu$ l der Serumprobe mit 80  $\mu$ l der Reagenzverdünnungslösung in die Wells einer V-Bottom Mikrotiterplatte gegeben. Danach wurden in die Wells der mit Fangantikörpern

**Tabelle 2.3** Inhalt des ELISA-Kit

Reagenz	Menge	Arbeitskonzentration
Human GDF-15 Capture Antibody	360 µg	2.00 $\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
Human GDF-15 Detection Antibody	2.25 µg	12.5 $\frac{\text{ng}}{\text{ml}}$
Human GDF-15 Standard	3 x 55 ng	7.81 – 500 $\frac{\text{pg}}{\text{ml}}$
Streptavidin-HRP	N/A	200 -fache Verdünnung

beschichteten und mit BSA geblockten Mikrotiterplatte 100 µl der verdünnten Seren pipettiert. Jede Probe wurde mit dem Verdünnungsverhältnis 1 : 3 doppeltbestimmt. Das GDF-15 aus dem Kit diente zur Erstellung von bei 6000  $\frac{\text{pg}}{\text{ml}}$  beginnenden Standardkurven als Referenz, durch Herstellung von zwei Verdünnungsreihen auf jeder Mikrotiterplatte. Daraufhin wurden die Seren eine Stunde Zeit inkubiert. Im Anschluss folgte wieder ein dreimaliges Waschen. Nun wurde in alle Wells 100 µl Detektionsantikörper (100  $\frac{\text{ng}}{\text{ml}}$  in PBS in BSA) zugefügt, die jetzt an die Fangantikörper binden konnten. Nach einer weiteren Stunde Inkubationszeit schloss sich ein erneutes dreimaliges Waschen an. Die danach hinzugefügten 100 µl pro Well Streptavidin-HRP-Lösung (1 : 200 in PBS 1 % BSA) banden nun in 20 min Inkubationszeit an die Detektionsantikörper. Danach wurden die Proben ein letztes Mal gewaschen und danach jeweils 100 µl der Substrat-Lösung Tetramethylbenzidine (TMB) (ready-to-use, SDT) hinzugefügt, welches nun zur gewünschten Blaufärbung führt. Um dieser Reaktion genug Zeit zu geben, wurden die Platten im Dunkeln, da TMB lichtempfindlich ist, für 25 min ruhen gelassen. Es wurden pro Well 100 µl der Stopplösung Schwefelsäure 1 N zugefügt, die eine Gelbfärbung der Proben bewirkte. Daraufhin wurde bei einer Wellenlänge von 450 nm die optische Dichte im Absorbance Microplate Reader (Sunrise, Tecan) gemessen, welche genaue Rückschlüsse auf die Höhe des GDF-15-Spiegels in der Serumprobe erlaubt. Die Ergebnisse der Messungen wurden mit den anonymisierten Patientennummern schriftlich in Tabellen festgehalten.

### 2.5.2.2 Material für das ELISA

Aus den folgenden Tabellen werden alle im Labor der Frauenklinik Würzburg verwendeten Materialien ersichtlich, die für die Messung von GDF-15 in den Serumproben der Patienten genutzt wurden.

**ELISA-Kit** Der Immunoassay wurde mit dem ELISA Kit DuoSet® der Firma R&D Systems (Katalog Nummer: DY957) durchgeführt. Dieses wurde, wie vom Hersteller gefordert, bei 2 – 8 °C gekühlt gelagert. In der Tabelle 2.3 sind die im Kit enthaltenen Komponenten aufgelistet. Das Streptavidin-HRP wurde nicht verwendet und durch eines

**Tabelle 2.4** Reagenzien für ELISA

Reagenz	Hersteller
Tween 20	Roth
PBS	Sigma
PBS Tabletten	Roth
BSA	Roth
s(HS)TMB	SDT-Reagents
Streptavidin-HRP	Sigma
Stop Solution (Rotipuran®)	Roth
Aqua Plastipur®	Fresenius
Schwefelsäure	Roth

**Tabelle 2.5** Geräte und Verbrauchsmaterialien für ELISA

Gerät oder Material	Hersteller
Pipette Transferpette® S (10 µl, 20 µl, 100 µl, 1000 µl)	Brand
Pipettenspitzen	Sarstedt
Glaspipette Silberbrand Eterna (10 ml, 20 ml)	Brand
Pipettierhelfer accu-jet® pro	Brand
Zentrifugenröhrchen Falcon® (15 ml, 50 ml)	Greiner
Mikrotiterplatte 96 Well Microlon® V-bottom	Greiner
Mikrotiterplatte 96 Well BD Falcon™	BD Biosciences
Polyethylen-Verschlussfolie	A. Hartenstein
Plattenschüttler Titramax 1000	Heidolph
Vortexer Vornado™	Benchmark
Absorbance Microplate Reader (Sunrise™)	Tecan
Gefrierschrank - 80 °C Herafreeze™	Thermo Scientific
Absorbance Microplate Reader (Sunrise™)	Tecan
F96 Maxisorb Nunc-Immunoplate	Thermo Scientific

der Firma Sigma ersetzt (siehe auch 2.4).

**Reagenzien** Neben den im ELISA-Kit enthaltenen Reagenzien wurden für das ELISA-Verfahren noch weitere Reagenzien benötigt, die in der Tabelle 2.4 aufgelistet werden. Das Streptavidin-HRP von Sigma ersetzte das mit dem ELISA-Kit mitgelieferte Streptavidin.

**Geräte und Verbrauchsmaterialien** Die Tabelle 2.5 zeigt die im Labor verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien für das ELISA-Verfahren.

## 2.6 Datenerhebung und -verarbeitung

Die Daten zur Behandlung der Patienten und Informationen aus dem diagnostischem Begleitprogramm wurden im Krankenhausinformationssystem SAP® dokumentiert. Zielgrößen, die für diese Studie wichtig waren, konnten daraus entnommen werden. Dazu gehörte die Bewertung des Therapieergebnisses nach RECIST aus den radiologischen Befunden, die klinische Bewertung aus Arztbriefen, Laborwerte der Patienten, ein eventuelles Todesdatum, allgemeine Patienteninformationen, sowie Informationen zu dessen Tumorerkrankung, die im Laufe der Studie gesammelt und aktualisiert wurden. Mitarbeiter der Studienambulanz, die Hausärzte und betreuenden Ärzte der Patienten ergänzten diese Informationen in manchen Fällen. Die Daten wurden dann in CRFs (Case Report Forms) dokumentiert.

Mit einer anonymisierten Patientenummer, die keine Rückschlüsse auf die Person erlaubt, wurden die Daten in Microsoft Excel® organisiert und am Studienende in eine Statistik-Software übertragen. Das dieser Arbeit zugrunde liegende Textsatzprogramm ist L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X.

## 2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Statistik- und Analyse-Software IBM SPSS Statistics®. Dabei wurden gängige statistische Methoden angewendet, wie die Berechnung von Mittelwerten, Medianen, absoluten und relativen Häufigkeiten.

Als statistischer Test auf Signifikanz der Unterschiede von GDF-15 zwischen den zwei Gruppen mit Therapieerfolg und Therapieversagen wurde ein Mann-Whitney-U-Test verwendet, da die Voraussetzungen für einen t-Test wegen des Fehlens einer Normalverteilung nicht erfüllt waren. Für die Berechnung einer möglichen statistisch signifikanten Korrelation zwischen dem Therapieergebnis und dem GDF-15-Spiegel wurde eine Rangkorrelationsanalyse nach Spearman mit Berechnung des Korrelationskoeffizienten durchgeführt. Die Voraussetzungen zweier mindestens ordinal skalierten Variablen sind mit einer ordinal- und einer intervall-skalierten Variable erfüllt. Der Korrelationskoeffizient  $r$  nach Spearman ist ein Maß für die Effektstärke.

Um beurteilen zu können, wie stark eine Rangkorrelation oder die Effektstärke ist, wird sich in dieser Arbeit an der Einteilung von Cohen orientiert:  $r > 0,1$  = geringer Effekt;  $r > 0,3$  = moderater Effekt;  $r > 0,5$  = starker Effekt [49].

Vor Studienbeginn wurde eine Fallzahlberechnung mit dem Institut für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Universität Würzburg durchgeführt. Durch dieses erfolgte auch nach Fertigstellung der statistischen Auswertung eine statistische Beratung.

Die statistische Auswertung wurde von der Promovendin selbst durchgeführt.



## 3 Ergebnisse

### 3.1 Studienpopulation

In die Pilotstudie wurden zunächst 47 Patienten eingeschlossen von denen 37 die erforderlichen Einschlusskriterien für eine Auswertung erfüllten (siehe Kapitel 2.1) und das Kollektiv für die Analysen bildeten. Die Patientencharakterisierung aller Patienten ist in der Tabelle A.1 im Anhang dargestellt. Im Folgenden werden die Merkmale mit ihrem jeweiligen Anteil am gesamten Studienkollektiv dargestellt.

#### 3.1.1 Allgemeine Merkmale

Die Tabelle 3.1 zeigt die Häufigkeit allgemeiner Merkmale des Studienkollektivs. Der Altersdurchschnitt des Kollektivs lag bei 59,0 Jahren und 75% der Patienten sind zwischen 50 und 69 Jahre alt. 75% der Studienteilnehmer männlich und ungefähr 85% der Patienten waren normal- oder leicht übergewichtig.

**Tabelle 3.1** Allgemeine Merkmale der Studienpatienten: Patientenzahl und relative Häufigkeit

<b>Variable</b>	<b>Patientenzahl</b>	<b>% von n=37</b>
<b>Alter in Jahren</b> Mittelwert: 59,0 (36-83)		
36-49	4	10,8
50-59	17	45,9
60-69	11	29,7
70-79	3	8,1
80-83	2	5,4
<b>Geschlecht</b>		
männlich	28	75,7
weiblich	9	24,3

**Tab. 3.1 Fortsetzung:** Merkmale der 37 Studienpatienten

BMI in $\frac{kg}{m^2}$		von n=30
Median: 22,86 (15,5 - 47,75)		
Untergewicht	1	3,3
Normalgewicht	16	53,3
Übergewicht	9	30,3
Adipositas Grad 1	1	3,3
Adipositas Grad 2	2	6,7
Adipositas Grad 3	1	3,3

### 3.1.2 Tumorerkrankung und Therapie

Die Tabelle 3.2 listet Informationen zu der Tumorerkrankung und Therapie des Studienkollektivs auf. Das Patientenkollektiv war sehr divers in Bezug auf die vertretenen Tumorentitäten, da jede Entität eingeschlossen werden konnte, die mit einem ICI behandelt wurde. Die größte untersuchte Gruppe bildeten mit 49% die Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs. Die darin am stärksten vertretene Entität war das Pharynxkarzinom mit elf Patienten (30%). Die nächstkleinere Gruppe war das kolorektale Adenokarzinom (n = 8) und das Karzinom der Lunge (n = 4). Andere Tumore hatten eine sehr kleine Fallzahl (Urothelkarzinom n = 3) oder waren Einzelfälle.

Mehr als 80% der Patienten hatten Fernmetastasen und alle anderen Tumore befanden sich in einem nicht resektablen, lokal fortgeschrittenen Zustand. Alle Patienten hatten vor der ICB andere onkologische Therapien erhalten, z. B. hatten mehr als 90% der Patienten vor der ICB eine Chemotherapie erhalten. Alle Patienten erhielten als ICB einen Wirkstoff, der die PD-1/PD-L1-Achse betrifft, der zum Teil mit einem weiteren ICI kombiniert wurde. Bis zum Zeitpunkt der letzten Nachverfolgung waren fast 75% der Patienten verstorben. Hier muss erwähnt werden, dass dieser Prozentsatz bei der ursprünglichen Gruppengröße von 47 Patienten noch höher lag. Von den in der Auswertung nicht berücksichtigten zehn Studienausscheidern verstarben sieben Patienten bereits noch während der ersten zwölf Wochen nach der ersten Gabe des ICI und die anderen drei Patienten deutlich vor der letzten Nachverfolgung.

**Tabelle 3.2** Tumorerkrankung und Therapie der Studienpatienten: Patientenzahl und relative Häufigkeit

Variable	Patientenzahl	% von n=37
<b>Tumorentität</b>		
Plattenepithelkarzinome des Kopfs & Halses:	18	48,6
- des Pharynx	11	29,7
- der Mundhöhle	3	8,1
- des Larynx	2	5,4
- der Nasennebenhöhlen	1	2,7
- des Ösophagus	1	2,7
Kolorektales Adenokarzinom	8	21,6
Karzinome der Lunge:	4	10,8
- Plattenepithelkarzinom	1	2,7
- Adenokarzinom	1	2,7
- Neuroendokrines Karzinom	1	2,7
- Großzellig anaplastisches K.	1	2,7
Pleuramesotheliom	1	2,7
Urothelkarzinom:	3	8,1
- der Blase	2	5,4
- des Ureters	1	2,7
Adenokarzinom der Prostata	1	2,7
Serös-papilläres Ovarialkarzinom	1	2,7
CUP <sup>a</sup>	1	2,7
<b>Fernmetastasen bei Studieneinschluss:</b>		
ja	31	83,8
lokal fortgeschritten	6	16,2
<b>Vorthérapien</b>		
Chemotherapie	34	91,9
Bestrahlung	28	75,7
Operation	26	70,3
<b>Therapie bei Studieneinschluss:</b>		
PD-1-Achsen-Inhibition <sup>c</sup>	37	100
+ CTLA-4-Inhibitor <sup>d</sup>	7	35,0

**Tab. 3.2 Fortsetzung:** Tumorerkrankung und Therapie

+ IAP-Inhibitor <sup>e</sup>	5	25,0
+ Anti-GITR	4	10,8
+ Anti-GITR + mTOR-Inhibitor <sup>f</sup>	1	2,7
+ LAG-3-Inhibitor	1	2,7
+ cMET-Inhibitor	1	2,7
+ PARP-Inhibitor <sup>g</sup>	1	2,7
+ Chemotherapie + Bestrahlung	1	2,7
<b>Gesamtüberleben bis 01.10.2020</b>		
Verstorben	28	75,7
Leben	9	24,3

<sup>a</sup> engl. für Cancer of unknown primary: Krebserkrankung mit unbekanntem Primärtumor

<sup>b</sup> franz. für Union internationale contre le cancer

<sup>c</sup> Nivolumab (n = 25), Pembrolizumab (n = 5), PDR001 (n = 6), Durvalumab (n = 1)

<sup>d</sup> Ipilimumab

<sup>e</sup> LCL161

<sup>f</sup> Everolimus

<sup>g</sup> Olaparib

## 3.2 GDF-15 und Therapieergebnis einzeln dargestellt

### 3.2.1 GDF-15-Messungen

Die Tabelle 3.3 zeigt den GDF-15-Median mit seinen Extremen der Baseline und der Messungen unter Therapie. Für eine genaue Beschreibung erfolgt hier auch die getrennte Darstellung der 4.WM und 12.WM. Die Extrema der Messwerte zeigen die großen interindividuellen Unterschiede und die Werte sind nicht normalverteilt. Es wurde vorrangig der Median angegeben, da der Mittelwert stark durch die Ausreißer verzerrt ist. Um die Verteilung zu demonstrieren, wird zum Vergleich auch der Mittelwert mit angegeben. In der Tendenz zeigte sich ein Anstieg der GDF-15-Werte von der Baseline zu den Messungen unter Therapie. Auffällig sind die besonders hohen Spiegel der sechzehn durchgeführten 4.WM. Der Median der 4.WM lag mit  $1,73 \frac{ng}{ml}$  deutlich höher, als der nach zwölf Wochen mit  $0,80 \frac{ng}{ml}$ . Hier muss darauf hingewiesen werden, dass durch Zufall fünfzehn dieser sechzehn Patienten eine PD hatten, bei der 12.WM dagegen nur 17 der 30 Patienten. Dieser Unterschied zwischen der 4.WM und der 12.WM könnte also nicht an dem Zeitpunkt der Messung liegen, sondern mit einer PD zusammenhängen.

Die Tabelle 3.4 zeigt den Median der Veränderung von GDF-15 im Therapieverlauf. Die GDF-15-Änderung eines Patienten ist definiert als die Differenz zwischen der GDF-15-Messung unter Therapie und der Baseline eines Patienten. Sie kann also positive Werte (Ansteigen des GDF-15) oder negative Werte (Abfallen) annehmen.

Der Median zeigt einen Anstieg von  $0,42 \frac{ng}{ml}$  von der Baseline auf den M.u.T.. Die Änderung zeigt bei den einzelnen Patienten große interindividuelle Unterschiede. Wie der absolute Messwert der 4.WM, ist auch die GDF-15-Änderung auf die 4. Woche besonders auffällig. Der Anstieg des GDF-15-Spiegels von der Baseline auf den M.u.T. war für die Patientengruppe mit 4.WM deutlich höher als für die Patientengruppe mit vorhandener 12.WM. Hier gilt jedoch wieder, dass dies möglicherweise nicht am Zeitpunkt sondern an einem besonders hohen Anteil an Patienten mit PD liegen könnte.

**Tabelle 3.3** GDF-15 Baseline und Messungen unter Therapie: Median mit Wertebereich

Messungen	Median in $\frac{ng}{ml}$	Patienten- zahl
• Baseline	0,89 (0,19 – 5,68)	37
• M.u.T. <sup>a</sup>	1,16 (0,18 – 32,02)	37
• 4.WM (nur bei PD und fehlender 12.WM)	1,73 (1,16 – 3,21)	7
• 12.WM	0,80 (0,18 – 32,02)	30
zur Einordnung:		
• 4.WM (alle durchgeführten)	1,67 (0,46 – 23,96)	16

<sup>a</sup> Messwert unter Therapie (M.u.T.): Bei PD und nicht vorhandenem 12.WM (7 Patienten) wurde die 4.WM als letzter gültiger Wert definiert und gemeinsam mit der 12.WM der anderen Patienten als gepoolter M.u.T. ausgewertet. Wenn eine 4.WM und eine 12.WM durchgeführt werden konnte, wurde die 12.WM für den M.u.T. verwendet. Das Pooling soll einer Verzerrung der Auswertung durch Ausscheiden bei schwerem Krankheitsverlauf entgegenwirken.

**Tabelle 3.4** Absolute GDF-15-Änderung: Median mit Wertebereich und Mittelwert

Änderung von:	Median der Änderung in $\frac{ng}{ml}$	Mittelwert in $\frac{ng}{ml}$	Patienten- zahl
• Baseline (BL) $\mapsto$ M.u.T.	0,42 (-1,27 – 26,34)	1,41	37
• BL $\mapsto$ 4.WM (nur bei PD und fehlender 12.WM)	1,11 (0,43 – 2,32)	1,09	7
• BL $\mapsto$ 12.WM	0,2 (-1,27 – 26,34)	1,48	30
zur Einordnung:			
• BL $\mapsto$ 4.WM (alle durchgeführten)	0,90 (0,06 – 20,59)	2,09	16

**Tabelle 3.5** Therapieergebnisse der Studienpatienten

Therapieergebnis	Patientenzahl	% von n = 37
Therapieerfolg	13	35,1
CR	1	2,7
PR	5	13,5
SD	7	18,9
Therapieversagen		
PD	24	64,9

### 3.2.2 Therapieergebnis der Studienteilnehmer

Die Tabelle 3.5 zeigt die Häufigkeiten des Therapieergebnisses der Studienteilnehmer. Die Kohorte der Patienten mit Therapieversagen war ungefähr doppelt so groß wie die der Patienten mit Therapieerfolg.

### 3.3 Analyse des Zusammenhangs von GDF-15 mit dem Therapieergebnis

In dem folgenden Abschnitt wird GDF-15 im Zusammenhang mit dem Therapieergebnis ausgewertet. Die zwei untersuchten Haupthypothesen der Arbeit waren:

1. Zwischen dem GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn und dem Therapieergebnis einer ICB besteht ein Zusammenhang.
2. Zwischen der GDF-15-Änderung unter Therapie bzw. dessen Zu- oder Abnahme besteht mit dem Therapieergebnis einer ICB ein Zusammenhang.

Dazu werden die zwei formulierten Hypothesen in ausgewählten Analysen jeweils parallel betrachtet, um den Vergleich zu erleichtern. Für die zunächst rein deskriptive Beschreibung eines möglichen Zusammenhangs zwischen GDF-15 und dem Therapieergebnis wurde eine Darstellung der Mediane und Boxplots (mit Interquartilsabständen) nach Therapieergebnis gewählt. Auf diese folgt ein Signifikanztest bezüglich der Unterschiede der zwei Gruppen Therapieerfolg versus Therapieversagen und ein Test bezüglich einer Korrelation mit dem vierstufigen Therapieergebnis (CR bis PD). Zuletzt wird das Therapieergebnis über oder unter definierten Grenzwerten dargestellt (normal vs. erhöht; gesunken/gleich vs. gestiegen).

Für die Auswertung der ersten Hypothese wird die Baseline genutzt. Für die Analyse der zweiten Hypothese wird der M.u.T. unter Therapie genutzt und die GDF-15-Änderung von der Baseline auf den M.u.T. untersucht. Die „GDF-15-Änderung“ wird berechnet als die Differenz zwischen M.u.T. und der Baseline eines Patienten. Sie spiegelt einen GDF-15-Anstieg oder -Abfall unter Therapie wider und kann daher positive Werte (Ansteigen) oder negative Werte (Abfallen) annehmen. Auf die getrennte Analyse der 4.- und 12.-Wochen-Messung wird aufgrund der sehr kleinen Gruppengrößen verzichtet.

#### 3.3.1 Deskriptiv: Mediane und Quartile nach Therapieergebnis

Tabelle 3.6 stellt die Mediane des GDF-15-Spiegels in Abhängigkeit des zwei- und vierstufigen Therapieergebnisses dar. Es zeigen sich auffällige Unterschiede in der Gegenüberstellung der Patienten mit Therapieerfolg und Therapieversagen.

Vor Therapiebeginn zeigt sich ein nur geringer Unterschied zwischen Patienten mit Therapieerfolg und Therapieversagen mit einer Differenz der Baselines von  $0,3 \frac{ng}{ml}$ .

Im Verlauf der Therapie stieg GDF-15 jedoch besonders bei Patienten mit Therapieversagen



**Tabelle 3.6** GDF-15 nach Therapieergebnis: Mediane und Patientenzahl

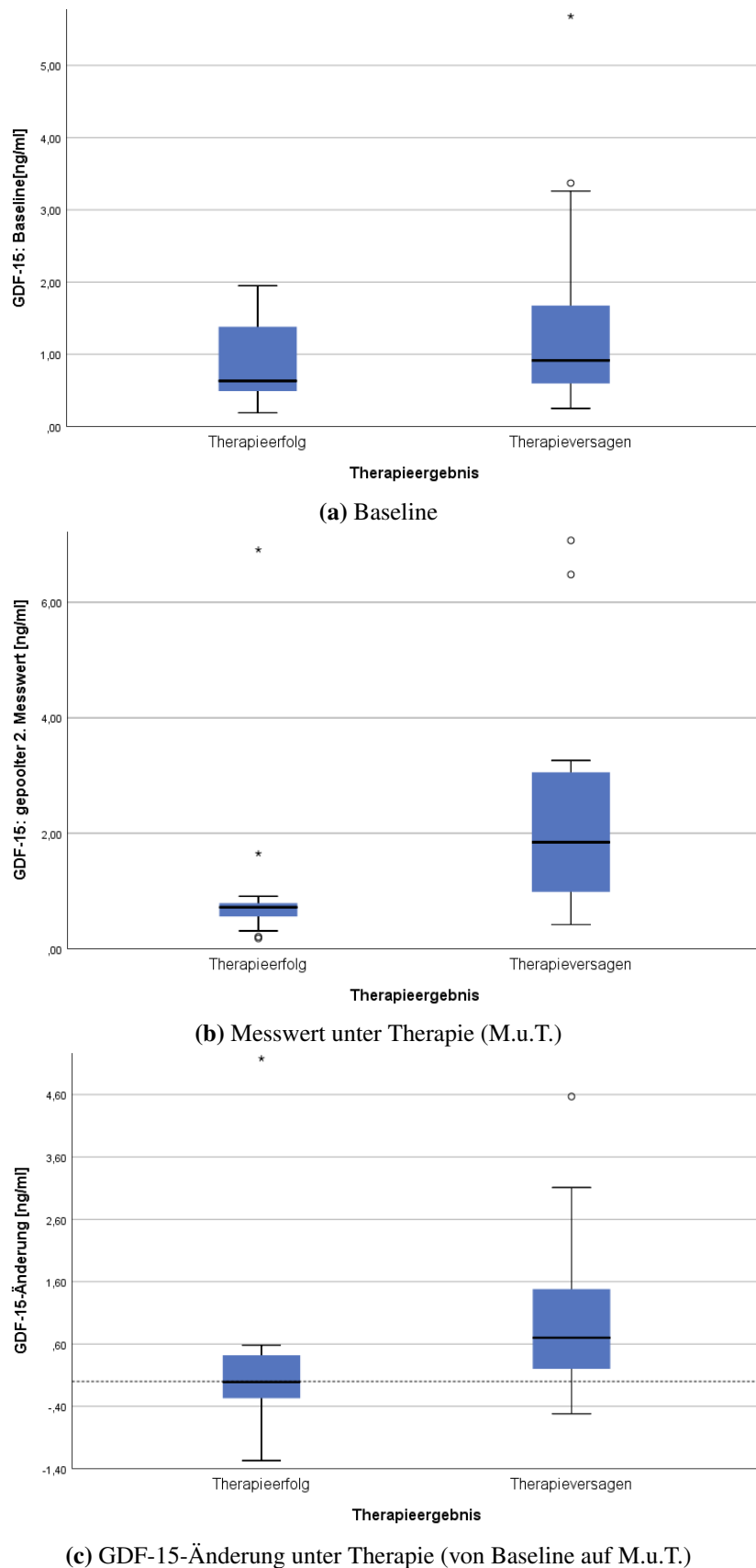
Therapieergebnis	in $\frac{ng}{ml}$		
	Baseline	M.u.T.	Änderung Baseline $\mapsto$ M.u.T.
Therapieerfolg (n = 13) :	0,63	0,72	- 0,01
CR (n = 1)	1,38	0,78	- 0,60
PR (n = 5)	0,63	0,72	0,06
SD (n = 7)	0,49	0,68	- 0,12
Therapieversagen (n = 24) :			
PD	0,92	1,85	0,70

an. Patienten mit Therapieerfolg zeigten einen M.u.T., der in der gleichen Größenordnung lag wie vor Therapiebeginn. Der Median der Patienten mit Therapieversagen lag unter Therapie jedoch mit  $1,85 \frac{ng}{ml}$  deutlich über dem Wert vor der Therapie und weist eine Differenz von  $1,13 \frac{ng}{ml}$  zu den Patienten mit Therapieerfolg auf. Diese Auffälligkeit spiegelt sich deutlich in der GDF-15-Änderung wider. Bei Patienten mit Therapieversagen stieg GDF-15 im Median um  $+0,7 \frac{ng}{ml}$  an. Bei Therapieversagern der ICB zeigt sich also ein deutlicher Anstieg von GDF-15. Dagegen hatten Patienten mit Therapieerfolg im Median von  $-0,01 \frac{ng}{ml}$  einen leicht gesunkenen/fast gleich gebliebenen GDF-15-Spiegel.

Die Bewertung der einzelnen Untergruppen der Patienten mit Therapieerfolg (CR bis SD) ist nur sehr begrenzt möglich, da die Kohorten sehr klein werden. Interessant ist, dass die Mediane der Patienten mit SD und PR aneinander liegen. Eine Aussage zu CR erscheint anhand eines Patienten nicht sinnvoll, auch wenn das deutliche Absinken von der Baseline auf den M.u.T. gut in das Gesamtbild passt.

Die Abbildung 3.1 visualisiert in Boxplots die beschriebenen Auffälligkeiten. Die blauen Bereiche markieren den Interquartilsabstand, in dem die mittleren 50 % der gemessenen GDF-15-Werte liegen und der darin liegende schwarze Balken markiert den Median. Die Markierungen durch einen Stern außerhalb der Antennen bilden starke Ausreißer und die runden Markierungen schwache Ausreißer ab. Es wird ein einzelner Ausreißer mit einer GDF-15-Änderung von  $26,34 \frac{ng}{ml}$  bei Therapieversagen (und entsprechend hohem M.u.T.) in den Teilabbildungen 3.1b und 3.1c nicht dargestellt, um eine größere Skalierung zu vermeiden.

Auch hier sieht man gut, dass der Unterschied zwischen den Patientengruppen mit Therapieerfolg und Therapieversagen vor Therapiebeginn (Abbildung 3.1a) nicht groß ist,



**Abbildung 3.1** GDF-15 nach Therapieergebnis in Boxplots. Schwarzer Balken: Median; blauer Bereich: Interquartilsabstand; Antennen: Wertebereich ohne Ausreißer; runde Markierung: schwache Ausreißer; Stern: starke Ausreißer

dieser jedoch beim M.u.T. deutlich sichtbar ist (Abbildung 3.1b), welches sich in GDF-15-Änderung auch gut widerspiegelt (Abbildung 3.1b).

### 3.3.2 Signifikanz des Zusammenhangs

**Tabelle 3.7** Mann-Whitney-U-Test: Test, ob GDF-15-Spiegel zwischen den 2 Gruppen Therapieerfolg und Therapieversagen signifikant verschieden ist (mit Effektstärkenberechnung)

Therapieergebnis	GDF-15		
	Baseline	M.u.T.	Änderung Baseline $\mapsto$ M.u.T.
Therapieerfolg vs. -versagen			
Signifikanz <sup>a</sup>	0,233	0,004	0,009
Effektstärke	/	0,47**	0,43**

\*\* die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant

<sup>a</sup> asymptotische Signifikanz (zweiseitig, da  $n > 30$ )

Um zu prüfen, ob die beschriebenen Unterschiede des GDF-15-Spiegels zwischen Therapieerfolg und Therapieversagen signifikant sind, wurde der Mann-Whitney-U-Test gewählt, da die Voraussetzungen für einen t-Test nicht erfüllt sind. Der Mann-Whitney-U-Test analysiert, ob die zentrale Tendenz zweier unabhängiger Stichproben, die nicht normalverteilt sind, verschieden ist.

Tabelle 3.7 zeigt die Ergebnisse dieses Tests. Vor Therapiebeginn ist der geringe Unterschied nicht signifikant. Dagegen ist der Unterschied des GDF-15-Spiegels zwischen Therapieerfolg und Therapieversagen des M.u.T. und der GDF-15-Änderung unter dem 0,01-Niveau signifikant. Die Effektstärke des Zusammenhangs der GDF-15-Änderung und dem Therapieergebnis ist mit einem  $r = 0,43$  nach Cohen als moderater Zusammenhang zu bewerten. Eine starke Korrelation läge bei einem  $r > 0,5$  vor [49].

Die bisherige Analyse testet nur die zentrale Tendenz des GDF-15-Spiegels der zwei Gruppen mit Therapieerfolg und Therapieversagen. Im Folgenden soll mit einer Rangkorrelation nach Spearman untersucht werden, ob sich die bisher gefundenen Zusammenhänge auch in einer Korrelation von GDF-15 mit vier Rängen nachweisen lassen. Die Tabelle 3.8 zeigt die Ergebnisse dieser Rangkorrelation nach Spearman.

Für die erste Hypothese, ob ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn und dem Therapieergebnis besteht, kann auch hier keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden.

**Tabelle 3.8** Rangkorrelationstest nach Spearman: Test, ob der GDF-15-Spiegel mit den vier Rängen des Therapieergebnisses korreliert (mit Korrelationskoeffizienten)

Therapieergebnis	GDF-15		
	Baseline	M.u.T.	Änderung Baseline $\mapsto$ M.u.T.
CR, PR, SD, PD			
Signifikanz (2-seitig)	0,324	0,006	0,009
Korrelationskoeffizient (r)	0,17	0,44**	0,42**

\*\* die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant

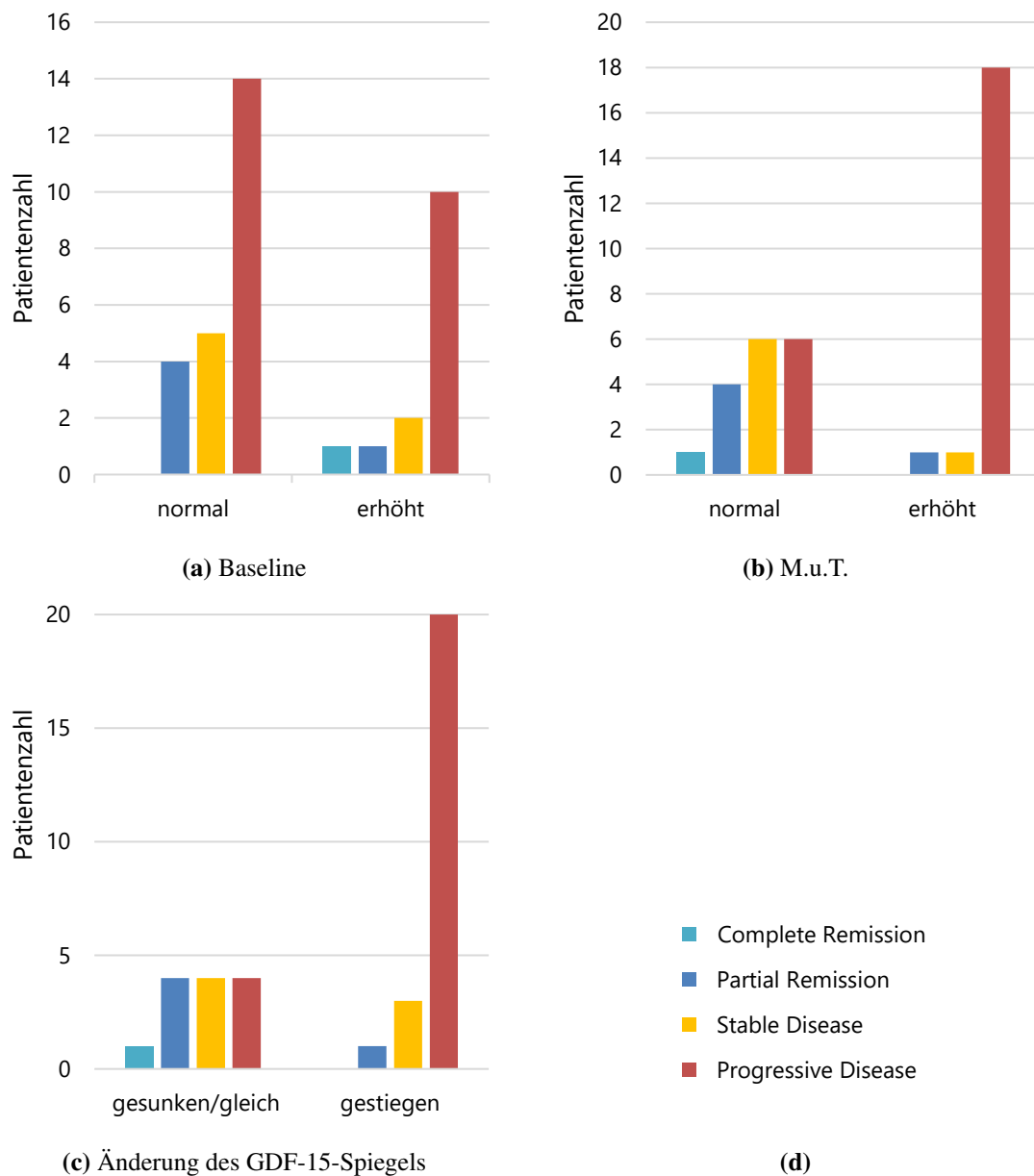
Für die zweite Hypothese zeigt sich jedoch eine signifikante Korrelation der GDF-15-Änderung unter Therapie mit dem Therapieergebnis in vier Rängen. Das Signifikanzniveau lag hierfür unter 0,01 und zeigte mit einem Korrelationskoeffizienten  $r = 0,424$  somit einen signifikanten, moderaten Zusammenhang zwischen der GDF-15-Änderung und dem Therapieergebnis. Das Ergebnis heißt, dass je stärker der GDF-15-Spiegel des Patienten unter Therapie stieg, desto eher hatte der Patient eine Progression, und je stärker er sank, desto eher eine Remission.

Das Ergebnis dieses Tests erweitert und unterstreicht die Aussage des vorherigen Kapitels 3.3.1, dass vor Therapiebeginn kein Zusammenhang zwischen GDF-15 und dem Therapieergebnis hergestellt werden kann, dieser sich jedoch für die GDF-15-Änderung unter Therapie signifikant nachweisen lässt.

### 3.3.3 GDF-15-Spiegel und -Änderung gruppiert nach Grenzwerten

In diesem Kapitel wird die Verteilung von Therapieerfolg und Therapieversagen aufgeteilt nach folgenden Grenzwerten dargestellt. Für die Einteilung der GDF-15-Spiegel in normal vs. erhöht bzw. gesunken/gleich vs. gestiegen gilt: Ein GDF-15-Spiegel bis  $1,15 \frac{ng}{ml}$  gilt als normal und darüber als erhöht.

Für die Gruppierung der GDF-15-Änderung wurde ein Streudiagramm betrachtet und ein Grenzwert gewählt, an dem sich eine Trendwende von Therapieerfolg zu Therapieversagen



**Abbildung 3.2** (a,b,c) Therapieergebnisse dargestellt nach Aufteilung der Patienten in Gruppen mit normalem oder erhöhtem GDF-15-Spiegel bzw. gesunkenem oder gestiegenem GDF-15-Spiegel. (d) Legende

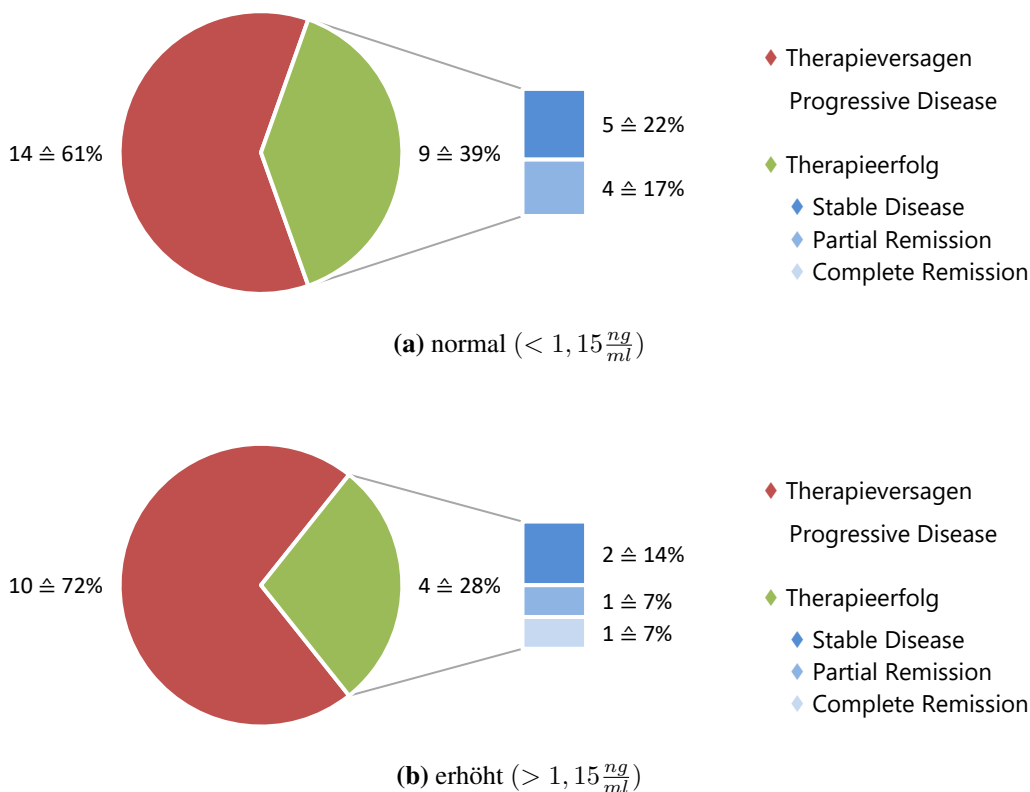


Abbildung 3.3 Baseline: Therapieergebnis nach klassifizierten GDF-15-Spiegeln

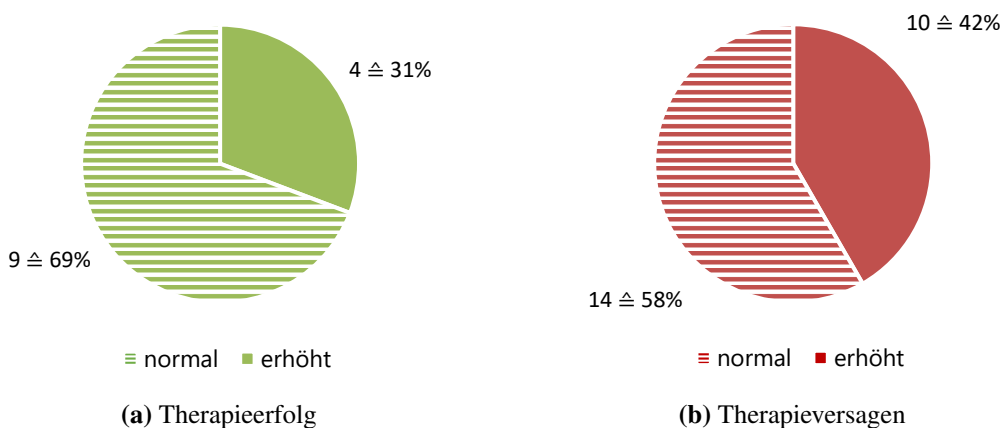


Abbildung 3.4 Baseline: Klassifizierte GDF-15-Spiegel nach Therapieergebnis

zeigte, da hierzu in der Literatur bisher keine Grenzwerte existieren. Ein gesunkener oder gleich gebliebener GDF-15-Spiegel von der Baseline auf den M.u.T. mit einer kleineren Änderung als  $+0,16 \frac{ng}{ml}$  wird als ein „gesunkener/gleicher“ GDF-15-Wert definiert, und wenn die GDF-15-Änderung größer ist als ein „gestiegener“ Wert.

Die Abbildung 3.2 zeigt eine Übersicht nach den beschriebenen GDF-15-Klassifikationen mit einer Verteilung der Therapieergebnisse.

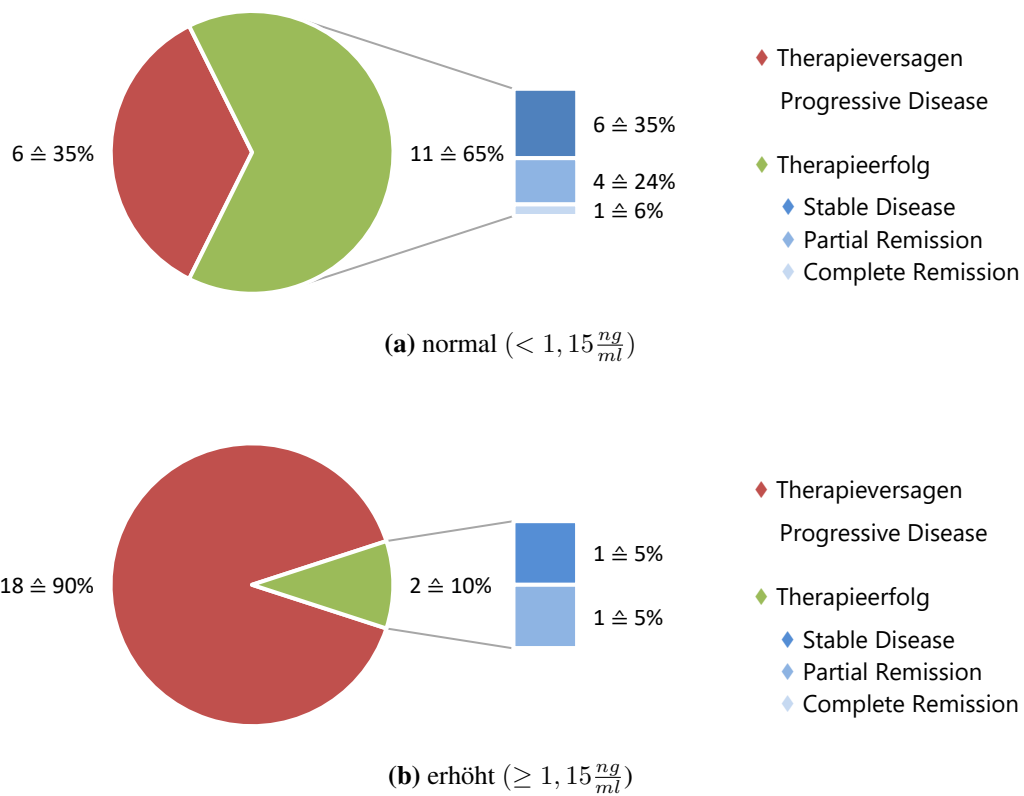


Abbildung 3.5 M.u.T.: Therapieergebnis nach klassifizierten GDF-15-Spiegeln

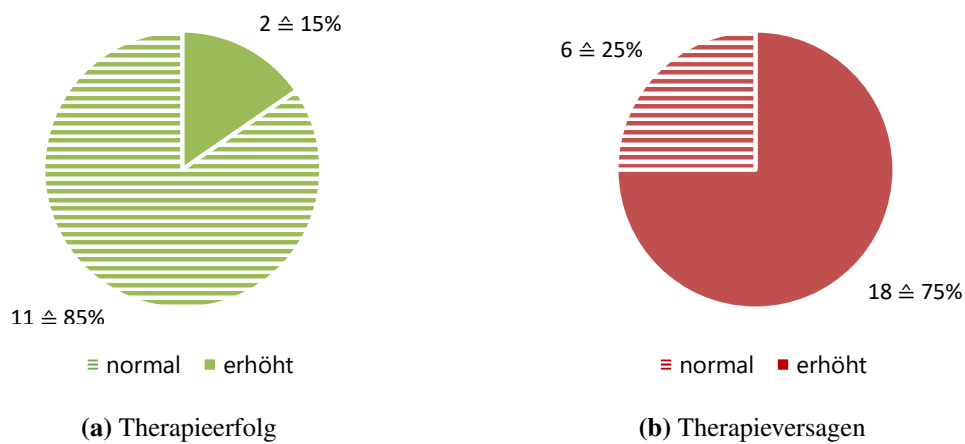


Abbildung 3.6 M.u.T.: Klassifizierte GDF-15-Spiegel nach Therapieergebnis

Die gruppierten Messungen der Baseline werden in den Abbildungen 3.3 und 3.4 dargestellt. Es zeigt sich eine sehr ähnliche Verteilung von Therapieerfolg und Therapieversagen zwischen normalem und erhöhtem GDF-15-Spiegel.

Unter Therapie zeigt sich jedoch auch in der Aufteilung nach Grenzwerten ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten GDF-15-Spiegel und einem Therapieversagen. Die Darstellungen des M.u.T. (Abbildungen 3.5 und 3.6) zeigen, dass sich der GDF-15-Spiegel

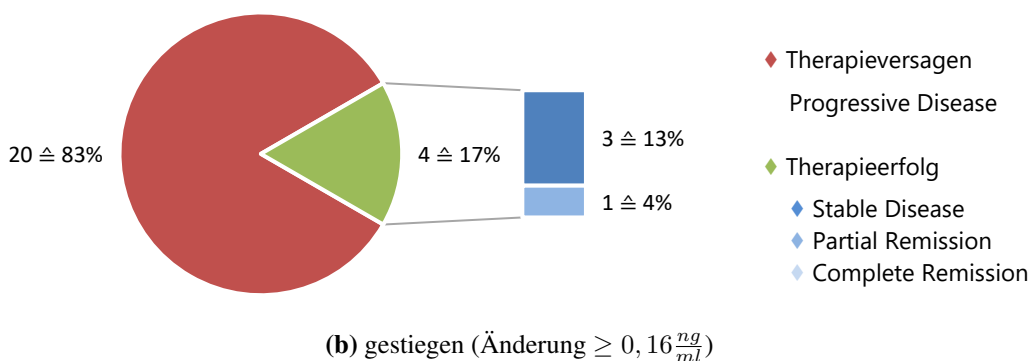
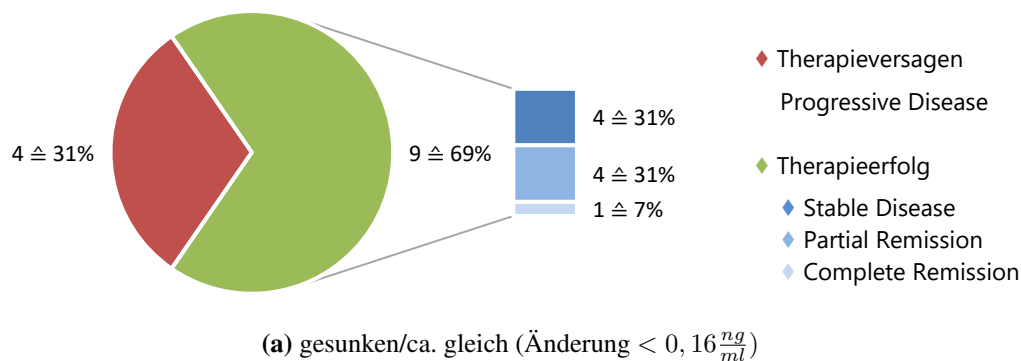


Abbildung 3.7 GDF-15-Änderung: Therapieergebnis nach klassifizierter GDF-15-Änderung

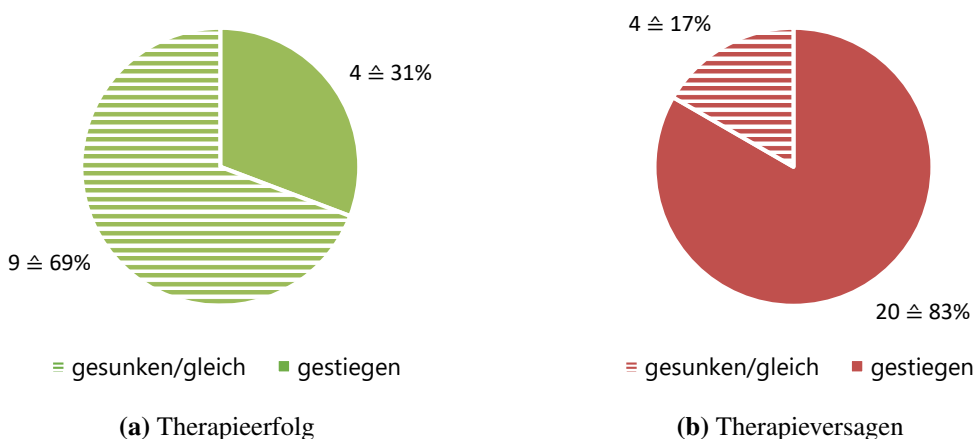


Abbildung 3.8 GDF-15-Änderung: Klassifizierte GDF-15-Änderung nach Therapieergebnis

unter Therapie auch hinsichtlich einer Klassifikation in zwei Gruppen, normal versus erhöht, deutlich verändert hat. Dies spiegelt sich in den Abbildungen zu einem unter Therapie gesunkenen bzw. gleich gebliebenen gegenüber einem gestiegenen GDF-15-Spiegel wider (Abbildung 3.7 und 3.8). Patienten mit einem unter Therapie gestiegenem GDF-15-Spiegel hatten zu 83% ein Therapieversagen. Dagegen hatten Patienten mit einem gesunkenen oder gleich gebliebenem GDF-15-Spiegel zu knapp 70% einen Therapieerfolg.



### 3.3.4 Auffälligkeiten bei ausgewählten Patienteneigenschaften

**Nach Entität:** Die größte Kohorte bildeten die Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs (n = 18). Hier ließ sich in der Rangkorrelation nach Spearman eine starke Korrelation nach Cohen zwischen dem GDF-15-Spiegel unter Therapie und dem Therapieergebnis zeigen (r = 0,59; p = 0,011). Diese war für die berechnete GDF-15-Änderung unter Therapie in dieser Kohorte jedoch nicht signifikant. Bei einzelner Betrachtung der häufigsten Entität dieser Gruppe dem Rachenkarzinoms (n = 11) konnte keine signifikante Korrelation mit dem Therapieergebnis festgestellt werden.

Die drei Patienten mit Urothelkarzinom fielen im Vergleich zu den anderen Entitäten auf, da sie im Gegensatz zu diesen einen konträren Zusammenhang zwischen der GDF-15-Änderung und dem Therapieergebnis zeigten. Dies könnte an der kleinen Fallzahl und an dem insgesamt schlechteren Ansprechen von Urothelkarzinomen auf eine ICB liegen und wird in Kapitel 4.3.3 diskutiert. Entfernte man das Urothelkarzinom als Entität aus der Rechnung der gesamten Studienpopulation (n = 34), zeigt sich sogar eine starke Korrelation (statt einer moderaten Korrelation des gesamten Kollektivs) nach Cohen zwischen der GDF-15-Änderung und dem Therapieergebnis (r = 0,54; p = 0,001).

Mit weiteren Entitäten, wie dem Kolorektalen Karzinom, Lungenkarzinom oder Mundhöhlenkarzinom, konnten aufgrund der zu kleinen Gruppen keine statistischen Tests mehr durchgeführt werden.

**Nach Fernmetastasierung:** Bei getrennter Betrachtung der Teilnehmer mit und ohne Fernmetastasen zeigte sich, dass Patienten mit Fernmetastasierung einen geringfügig stärkeren Zusammenhang zwischen der GDF-15-Änderung unter Therapie und dem Therapieergebnis zeigten.

**Nach Body-Mass-Index:** Die Studienpatienten wurden nach ihrem BMI in zwei Gruppen eingeteilt: in normalgewichtig bis zu einem BMI von  $25 \frac{\text{kg}}{\text{m}^2}$  und darüber als übergewichtig. Der statistische Zusammenhang zwischen der GDF-15-Änderung unter Therapie und dem Therapieergebnis zeigte sich in beiden dieser Gruppen gleich stark ausgeprägt.

### 3.4 Zusammenhang des GDF-15-Spiegels mit anderen ausgewählten Variablen

Im folgenden Abschnitt werden unabhängig vom Therapieergebnis und den bisher untersuchten Hypothesen Zusammenhänge des GDF-15-Spiegels und dessen Änderung unter Therapie mit anderen klinischen Variablen dargestellt.

**Tabelle 3.9** GDF-15-Spiegel/-Änderung und Fernmetastasierung: Mediane

Fernmetastasierung	GDF-15 Median in $\frac{ng}{ml}$		
	Baseline	M.u.T.	Änderung Baseline $\mapsto$ M.u.T.
ohne (n = 6)	0,56	0,55	-0,08
mit (n = 31)	0,92	1,61	0,56

**Zusammenhang mit Fernmetastasierung:** Bei den Studienteilnehmern zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel und einer vorhandenen Fernmetastasierung. Wie in Tabelle 3.9 zu sehen ist, hatten Teilnehmer mit Fernmetastasierung im Durchschnitt einen höheren GDF-15-Spiegel als Patienten mit nur lokal fortgeschrittenen Tumoren. Ein signifikanter Unterschied konnte im Mann-Whitney-U-Test nicht für die Baseline, jedoch für die Messung unter Therapie als statistisch signifikant (M.u.T.  $p = 0,005$ ) und der GDF-15-Änderung ( $p = 0,036$ ) nachgewiesen werden.

**Tabelle 3.10** GDF-15-Spiegel/-Änderung und Body-Mass-Index: Mediane

Body-Mass-Index in $\frac{kg}{m^2}$	Median des GDF-15-Spiegels in $\frac{ng}{ml}$		
	Baseline	M.u.T.	Änderung Baseline $\mapsto$ M.u.T.
Normalgewicht: 18,5 - 24,9 (n = 16)	0,68	0,78	0,18
Übergewicht: $\geq 25$ (n = 13)	0,83	1,96	1,11

**Zusammenhang mit Body-Mass-Index:** Tabelle 3.10 zeigt die Mediane der GDF-15-Spiegel aufgeteilt in normal- und übergewichtige Patienten. Bei Patienten mit Übergewicht zeigte sich besonders unter Therapie ein höherer Median als bei Patienten mit Normalgewicht und die GDF-15-Änderung unter ICB war deutlicher stärker als bei normalgewichtigen Patienten, die nur einen leichten Anstieg verzeichneten. Der Unterschied des GDF-15-Spiegels zwischen den beiden Gruppen ist nur für die GDF-15-Änderung unter Therapie statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test,  $p = 0,021$ ).

**Zusammenhang mit schwerer Autoimmunreaktion:** Bei drei Patienten des Kollektivs traten schwere Autoimmunreaktionen im Rahmen der Therapie auf. Sie zeigten jeweils einen Anstieg von ca.  $0,5 \frac{ng}{ml}$ ,  $2 \frac{ng}{ml}$  bzw.  $3 \frac{ng}{ml}$  von der Baseline auf den M.u.T.. Letztere beiden Patienten hatten eine PD und verstarben sehr früh. Einer der Patienten hatte in einer durchgeführten 4.WM, nach der er bald verstarb, sogar einen GDF-15-Spiegel von  $23,96 \frac{ng}{ml}$ . Alle drei Fälle mit schweren Autoimmunreaktionen zeigten also im Vergleich zum restlichen Kollektiv einen deutlich stärkeren Anstieg des GDF-15-Spiegels unter Therapie als das restliche Kollektiv. Der Median der GDF-15-Änderung der drei Patienten mit schwerer Immunreaktion war  $+2,32 \frac{ng}{ml}$  im Vergleich zu dem Median der GDF-15-Änderung des restlichen Kollektiv mit  $+0,34 \frac{ng}{ml}$ .

**Zusammenhang mit Alter oder Geschlecht:** Statistisch bestand kein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel und dem Alter oder Geschlecht der Patienten.



## 4 Diskussion

Das untersuchte Kollektiv aus 37 Patienten wurde auf Grund einer soliden, fortgeschrittenen Tumorerkrankung mit einem PD-1/PD-L1-ICI behandelt. Bei den Patienten wurden die GDF-15-Spiegel und deren Änderung unter Therapie im Zusammenhang mit dem Therapieergebnis untersucht. Dazu wurden GDF-15-Messungen vor und unter der Therapie durchgeführt. 24 der Patienten zeigten ein Therapieversagen und dreizehn Patienten einen Therapieerfolg.

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Vor Therapiebeginn konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel und dem Therapieergebnis gezeigt werden. Hier zeigte sich nur eine Tendenz. Bei Therapieerfolg lag die Baseline im Median bei  $0,63 \frac{ng}{ml}$  und bei Therapieversagen bei  $0,92 \frac{ng}{ml}$ . Die Betrachtung des GDF-15-Spiegels, klassifiziert in normal oder höher als  $1,15 \frac{ng}{ml}$ , zeigte eine sehr ähnliche Verteilung des Therapieergebnisses auf die Gruppen mit normalem und erhöhtem GDF-15-Spiegel.

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der GDF-15-Änderung unter Therapie und dem Therapieergebnis. Der GDF-15-Spiegel von Patienten mit Therapieversagen stieg unter Therapie im Gegensatz zu den Patienten mit Therapieerfolg deutlich an. Der M.u.T. lag bei Therapieerfolg bei  $0,72 \frac{ng}{ml}$  und bei Therapieversagen bei  $1,85 \frac{ng}{ml}$  (Mann-Whitney-U-Test:  $p = 0,004$ ;  $r = 0,47$ ). Dieser Anstieg wurde anhand der GDF-15-Änderung von der Baseline auf den M.u.T. untersucht. Patienten mit Therapieerfolg hatten eher einen gleich bleibenden oder abnehmenden GDF-15-Spiegel mit im Median  $-0,01 \frac{ng}{ml}$ , wohingegen der GDF-15-Spiegel bei Patienten mit Therapieversagen im Median um  $0,7 \frac{ng}{ml}$  anstieg (Mann-Whitney-U-Test:  $p = 0,009$ ;  $r = 0,43$ ). Die GDF-15-Änderung korrelierte auch signifikant mit dem vierstufigen Therapieergebnis der Patienten (Rangkorrelation nach Spearman:  $p = 0,009$ ;  $r = 0,42$ ). Teilte man die GDF-15-Änderung an einer Grenze von  $0,16 \frac{ng}{ml}$  in Patienten mit unter Therapie gesunkenem/gleich gebliebenem einerseits und gestiegenen GDF-15 andererseits ein, zeigte sich eine auffällige Verteilung. Knapp 70% der Patienten mit gesunkenem/gleich gebliebenem GDF-15-Spiegel hatten einen

Therapieerfolg, wohingegen nur 17% der Patienten mit gestiegenem GDF-15-Spiegel einen Therapieerfolg erreichten.

Unabhängig des Therapieergebnisses zeigte sich bei Patienten mit Fernmetastasierung ein höherer GDF-15-Spiegel. Auffällig war auch ein gegenüber dem restlichen Kollektiv deutlich stärker gestiegener GDF-15-Spiegel bei drei Patienten mit schwerer Autoimmunreaktionen im Rahmen der ICB.

## 4.2 Methodik der Pilotstudie

**Studiendesign:** Ein Vorteil einer prospektiv ausgelegten Studie ist es, vor Beginn einer Untersuchung eine eindeutige Fragestellung definieren zu müssen und dazu eine Fallzahlberechnung durchführen zu können. In unserem Fall war durch den prospektiven Charakter zusätzlich vorteilhaft, dass die Bewertung des Therapieergebnisses deutlich vor dem Vorliegen der GDF-15-Messungen aus dem Labor erfolgte. Dies machte, im Falle einer Bewertung des Therapieergebnisses anhand der Arztbriefe bei fehlendem eindeutigem RECIST-Befund, eine Beeinflussung unmöglich.

Es hat sich herausgestellt, dass der gewählte Zeitpunkt für eine GDF-15-Messung unter Therapie nach 12 Wochen für das gewählte Kollektiv eher spät war, da elf Patienten bereits verstorben waren. Die später hinzugenommene 4.WM bei einer PD konnte nur einen Teil der fehlenden Messungen von Patienten ersetzen, da leider bereits sieben Patienten verstorben waren. Im Vergleich zu wenigen bisher vorhandenen Studien mit vergleichbarer Fragestellung haben wir damit jedoch ähnliche Zeitpunkte gewählt, wie z. B. in der Studie von Nyakas et al., die GDF-15 als Biomarker bei Immuntherapie des Malignen Melanoms vor Immuntherapie und bei der 2. und/oder 3. ICI-Gabe (4. und 7. Woche) untersucht haben [41].

Das Studienausscheiden aus anderen, persönlichen Gründen war mit 3 von 47 Teilnehmern gering. Das könnte auch daran gelegen haben, dass die Teilnahme so leicht wie möglich gestaltet wurde. Eine weitere Maßnahme, um die Zahl der Studienausscheider gering zu halten, war das Einbeziehen der 4.WM bei PD in einem gepoolten Messwert unter Therapie.

**Studienkollektiv:** Die Besonderheit des Kollektivs durch die zum Großteil am Lebensende stehenden, schwer kranken Patienten, prägte den Studienablauf. Für diese konnte die Teilnahme an Studienuntersuchungen, von denen sie nicht profitieren, nicht als selbstverständlich angesehen werden.

Die vor Studienbeginn durchgeführte Fallzahlberechnung ergab 40 Studienteilnehmer. Diese konnte durch das Ausscheiden von zehn der 47 Studienteilnehmer nicht erreicht werden,

lag aber nah an der Fallzahl. Die Teilnehmerzahl lag damit in der Größenordnung der oben erwähnten durchgeführten klinischen Studien von Nyakas et al. mit 56 Patienten, die den GDF-15-Spiegel bei Ipilimumab-Therapie des Malignen Melanom untersuchte [41]. Angesichts der begrenzten Zahl von Patienten, die mit ICI behandelt werden, der Schwere und Seltenheit der entsprechenden Tumorerkrankungen und des Aufwands der Rekrutierungszeit war die Teilnehmerzahl angemessen. Zusätzlich war das Ziel der Pilotstudie potenzielle Zusammenhänge aufzudecken, die in größer angelegten Studien untersucht werden können. Aufgrund der Teilnehmerzahl besteht bei den Ergebnissen jedoch das Risiko sowohl eines alpha-, als auch eines beta-Fehlers.

Möglicherweise hatte es auf die Zusammensetzung des Studienkollektivs und die Repräsentation der jeweiligen Entität einen Einfluss, wie intensiv auch der weitere Austausch zwischen der jeweiligen Klinik und der ECTU stattfand. Damit hing vermutlich zusammen, wie häufig ein Patienten mit geplanter ICB gemeldet wurden.

**Klassifizierung des Therapieergebnisses:** Das Therapieergebnis wurde über RECIST definiert und, wenn dieses nicht vorhanden war, durch die Bewertung anhand des klinischen Erscheinungsbilds und der Arztbriefe des Patienten.

RECIST wurde speziell für Studienzwecke entwickelt, um ein Therapieergebnis nach eindeutigen radiologischen Kriterien über die Veränderung der Tumorlast definieren zu können. Es war gut für die Pilotstudie geeignet und ermöglicht eine bessere Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von Studienergebnissen [50, 51]. Das RECIST der Patienten wurde von Radiologen befundet, die ansonsten nicht in die Auswertung der Studie involviert waren. Inzwischen gibt es die extra für Immuntherapien entwickelten „immune-related“ Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (iRECIST). Diese Kriterien wurden nötig, da bei Immuntherapien Fälle mit einer sogenannten Pseudoprogression existieren. Eine Pseudoprogression würde gemäß der klassischen RECIST-Kriterien gegebenenfalls fälschlicherweise als PD klassifiziert werden, obwohl die zeitweilige Größenzunahme des Tumors nicht auf einen tatsächlichen Tumorprogress zurückzuführen ist, sondern auf verschiedene Mechanismen der Immunreaktion des Körpers [52]. Eine Pseudoprogression tritt zwar nur in wenigen Fällen auf, sollte aber in einer Bewertung bedacht werden [1]. Die iRECIST-Kriterien berücksichtigen diese Besonderheit und verlangen im Falle einer Progression eine folgende Untersuchung nach ca. 4-8 Wochen zur Bestätigung der PD [52].

Wenn aus verschiedenen Gründen kein RECIST befundet wurde, erfolgte die Bewertung des Therapieergebnisses durch die Promovendin anhand der Arztbriefe und der klinischen Präsentation des Patienten. Die Bewertung wurde von der Promovendin nach bestem Wissen und Gewissen vorgenommen, begrenzt jedoch die Qualität der Zielgröße „The-

rapieergebnis“ im Gegensatz zu einer reinen Bewertung nach RECIST. Zum Zeitpunkt der Bewertung lagen die GDF-15 Messwerte noch nicht vor und konnten daher keinen Einfluss auf diese nehmen.

Aufgrund der Gruppengröße war die übergeordnete Einteilung in Therapieerfolg und Therapieversagen sinnvoll. Die Klassifizierung von CR, PR und SD als Therapieerfolg wird auch in anderen Veröffentlichungen verwendet [53]. Wenn eine fortgeschrittene Tumorerkrankung auch nur aufgehalten werden kann, darf dies als ein Erfolg der ICB angesehen werden. Die meisten Patienten erreichen auch mit einer SD einen signifikanten Überlebensvorteil [54]. Für das Studienkollektiv wurde geprüft, ob das definierte Therapieergebnis mit dem Überleben der Patienten korrelierte. Dies ist signifikant der Fall für das vier-stufige als auch das zwei-stufige Therapieergebnis. Die Überlebenskurven der jeweiligen Therapieergebnisse entfernen sich signifikant voneinander.

**Bestimmung des GDF-15-Spiegels:** Ein Vorteil von GDF-15 ist die einfache Erhebung nur eines zusätzlichen Serum-Röhrchens bei einer, bei den meisten Patienten, ohnehin nötigen Blutentnahme. Dies bedeutet wenig Aufwand und es sind kaum Komplikationen für den Patienten zu befürchten. Für andere bereits validierte und als auch potenzielle Biomarker sind z. B. mit einer Gewebebiopsie invasivere Verfahren nötig, wie u.a. für die Untersuchung des PD-L1 Status [55].

Ungünstig ist, dass die GDF-15-Probe bis zur Messung im Labor bei -70 °C gelagert werden soll und diese Temperatur nicht in allen Laboren zu ermöglichen ist. Vorteilhaft dagegen ist die Auswertung der Probe selbst, da das etablierte Sandwich-ELISA-Verfahren genutzt werden kann. Auch bei dieser Methode können zwar Messfehler entstehen, jedoch besteht kein Spielraum für eine Interpretation der Messung.



## 4.3 GDF-15 als Biomarker für Therapieversagen

### 4.3.1 Prädiktiver Wert vor Therapiebeginn

Unsere Studie zeigte vor Therapiebeginn geringe Unterschiede des GDF-15-Spiegels zwischen Patienten mit Therapieerfolg und -versagen. Dieser war deutlich kleiner als unter Therapie und war im Mann-Whitney-U-Test nicht signifikant. Unsere Studie kann folglich keinen deutlichen Hinweis liefern, dass mit der Messung des GDF-15-Spiegels eine Vorhersage des Therapieergebnisses einer ICB möglich wäre.

Eine vergleichbare Studie, die untersucht wie der GDF-15-Spiegel vor als auch unter Therapie mit dem Therapieergebnis einer ICB zusammenhängt, konnten wir nicht finden. Daher könnten wir unsere Ergebnisse nur mit ähnlichen Fragestellungen vergleichen.

Es ist möglich, dass ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel vor Therapie und dem Therapieergebnis existiert und nur geringer ist. Möglicherweise tritt er unter anderem im Vergleich zu dem signifikanten Zusammenhang des GDF-15-Spiegels unter Therapie und der GDF-15-Änderung und dem Therapieergebnis in den Hintergrund. So zeigten Nyakas et al. für den GDF-15 als prognostischen Wert für eine Ipilimumab-Therapie einen signifikanten Unterschied von  $0,4 \frac{ng}{ml}$  zwischen den Medianen von Patienten die unter Therapie überleben oder nicht, und bezeichneten diesen als auffällig [41]. In unserer Studie lagen zum Vergleich die Mediane der Patienten mit Therapieerfolg und -versagen vor Therapie um  $0,3 \frac{ng}{ml}$  auseinander.

Wenn wir auf dieser Basis die 1. Hypothese ablehnen, würde es sich möglicherweise um einen beta-Fehler handeln. Denn neben der festgestellten Tendenz gibt es weitere Hinweise für einen Zusammenhang. So nimmt GDF-15 eine Rolle in der Immunmodulation ein und verhindert vermutlich die Aktivierung von T-Zellen, über die eine ICB jedoch erst wirken kann [22] (s. Kapitel 1.3.3). Unabhängig von einer Immuntherapie wurde in zahlreichen Studien für einen erhöhten GDF-15-Spiegel bei Krebserkrankungen ein negativer prognostischer Wert festgestellt. Li et al. konnten z. B. bei Patienten mit kolorektalem Karzinom ein Hazard Ratio von 2.09 für ein kürzeres Überleben von Patienten mit hohem GDF-15-Spiegel feststellen [33]. Auch Vanhara et al. zeigten einen Zusammenhang mit einer Tumorprogression [56]. Arfsten et al. veröffentlichten, dass GDF-15 in soliden Tumoren, wie gastrointestinalen Tumoren oder Lungenkrebs (und weiteren), mit der Schwere einer Erkrankung und schlechten Prognose assoziiert ist [57]. Diese Studien sind zwar nicht direkt vergleichbar mit unseren Untersuchungen, da die Patienten nicht mit einer ICB therapiert wurden. Sie stützen jedoch die Annahme, dass GDF-15 eine Rolle bei der Progression einer Tumorerkrankung zukommt, und eine Erhöhung zu einem schlechteren Therapieergebnis und einer schlechteren Prognose führt.

Möglicherweise existierten in der vorgestellten Studie Störgrößen, die wir nicht ausschalten konnten und zu einer Veränderung der Ergebnisse führten. Beispielsweise sind Einflüsse von Medikamenten oder Chemotherapien auf den GDF-15-Spiegel in verschiedenen Studien nachgewiesen worden [58, 59]. Die Chemotherapien und Schmerzmittel der Patienten wurden zwar von uns erfasst, jedoch konnte nicht auf eine Korrelation kontrolliert werden, da die entsprechenden Gruppen zu klein wurden.

Unsere Studie konnte also eine Tendenz zwischen dem GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn und dem Therapieergebnis einer ICB zeigen, deren prädiktiven Wert in folgenden Untersuchungen nachgegangen werden sollte.

### 4.3.2 Anstieg von GDF-15 korreliert mit Therapieversagen

Unsere Ergebnisse zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Änderung des GDF-15-Spiegels unter Therapie mit dem Therapieergebnis einer ICB. Bei Therapieerfolg blieb der GDF-15-Spiegel im Median ungefähr gleich und bei Therapieversagen nahm der Spiegel im Median um  $0,7 \frac{ng}{ml}$  zu. Auch korrelierte die GDF-15-Änderung signifikant mit dem vier-stufigen Therapieergebnis in der Rangkorrelation nach Spearman.

Eine vergleichbare Studie, die untersucht wie der GDF-15-Spiegel unter Therapie mit dem Therapieergebnis einer ICB zusammenhängt, gibt es bisher noch nicht. Daher werden unsere Ergebnisse nur mit ähnlichen Fragestellungen verglichen.

Die in dieser Arbeit vorgestellte Studie konnte einen Unterschied der Mediane der GDF-15-Änderung unter Therapie zwischen Therapieerfolg- und -versagen von  $0,7 \frac{ng}{ml}$  zeigen. Auch der Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich der GDF-15-Spiegel unter Therapie mit  $> 1 \frac{ng}{ml}$  war deutlich. Diese Ergebnisse ähneln den Ergebnissen vergleichbarer Studien. Beispielsweise konnten Nyakas et al. in der oben bereits erwähnten Studie von 2019 bei mit Ipilimumab behandelten 69 Melanom-Patienten zeigen, dass der GDF-15-Spiegel unter Therapie anhaltend erhöht war bei Patienten, die nicht überlebten, im Vergleich zu den überlebenden Patienten. In der siebten Woche der ICB mit Ipilimumab lag der GDF-15-Spiegel bei überlebenden Patienten bei  $0,4 \frac{ng}{ml}$  und bei nicht überlebenden bei  $0,8 \frac{ng}{ml}$  ( $p < 0,01$ ). Diesen Unterschied konnten die Autoren im Übrigen auch vor Therapiebeginn zeigen [41].

Der GDF-15-Spiegel unter Therapie ist bereits bei anderen Krebstherapien mit einem schlechteren Therapieergebnis assoziiert worden. 2014 konnten Lu et al. zeigen, dass ein erhöhter GDF-15-Spiegel sowohl vor Beginn als auch unter einer Chemotherapie bei 384 Patienten mit Magenkarzinom mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert ist [60]. Für GDF-15 ist des Weiteren bekannt, dass verschiedene Faktoren zu einer Erhöhung des Spiegels führen können, wie bestimmte Medikamente oder Chemotherapien [58, 59]. Zwar war das von uns untersuchte Kollektiv bezüglich der Entitäten heterogen, jedoch

erhielten alle Patienten einen die PD-1/PD-L1-Achse betreffenden ICI und nur einer der 37 Patienten parallel zu dieser eine Chemotherapie. Das Kollektiv war diesbezüglich also relativ homogen und trotzdem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Änderung des GDF-15-Spiegels und dem Therapieergebnis.

Die Ergebnisse bekräftigen, dass es interessant sein könnte die Änderung des GDF-15-Spiegels unter Therapie einer ICB in weiteren Studien zu untersuchen. Dabei stellt sich die Frage, zu welchem Zeitpunkt eine zweite Messung nach der Baseline unter Therapie sinnvoll wäre. Nyakas et al. haben sich für eine GDF-15 Messung vor Therapie, nach vier und nach sieben Wochen Ipilimumab-Therapie entschieden und konnten zu allen Zeitpunkten Unterschiede bezüglich des Gesamtüberlebens unter ICB erkennen [41]. In unserer Studie zeigte sich nach vier Wochen eine deutliche Erhöhung des GDF-15-Spiegels bei Therapieversagen. Durch Zufall gibt es jedoch nur einen Vergleichswert eines Patienten mit Therapieerfolg in der 4.WM und dieser hatte mit dem Ergebnis vereinbar einen niedrigen GDF-15-Spiegel ( $0,7 \frac{ng}{ml}$ ). Patienten mit Therapieversagen hatten im Durchschnitt nach der zwölften Woche sogar höhere GDF-15-Spiegel als nach 4 Wochen. Eine valide Aussage, welcher der Zeitpunkte besser geeignet ist, lässt sich aus diesen Daten nicht ableiten. Diese Daten deuten darauf hin, dass beide Zeitpunkte, nach vier und zwölf Wochen, geeignet wären, eine Änderung des GDF-15-Spiegels zu erfassen, die in einem Zusammenhang mit dem Therapieergebnis einer ICB steht.

### 4.3.3 Beeinflussung durch die Entität

Da die vorgestellte Pilotstudie verschiedene Entitäten einschloss, wurden die einzelnen Gruppen zu klein, um statistisch valide Aussagen zu treffen.

Jedoch zeigte die größte Gruppe der Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs (n=18) eine starke Korrelation nach Cohen ( $p=0,011$ ) zwischen dem M.u.T. und dem Therapieergebnis, und damit eine stärkere Korrelation als das gesamte Studienkollektiv. GDF-15 wurde im Zusammenhang von Kopf-Hals-Tumoren schon mehrfach untersucht. Yang et al. fanden mit dem GDF-15-Spiegel einen prädiktiven und prognostischen Wert bei Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinom [61]. Bei dem gleichen Karzinom wurde von Schiegnitz et al. bei 64 Patienten auch eine deutliche Assoziation von einem erhöhtem GDF-15-Spiegel mit einem schlechteren Gesamtüberleben festgestellt [62].

In dieser Untersuchung wurde das Urothelkarzinom als einzige Entität auffällig, indem es einen entgegengesetzten/negativen Zusammenhang zwischen der Änderung des GDF-15-Spiegels unter Therapie und dem Therapieergebnis zeigte. Bei einer Gruppengröße von drei Patienten ist es jedoch nicht unwahrscheinlich, dass dies ein Zufall ist. Auch für das Urothelkarzinom konnte ein erhöhter GDF-15-Spiegel bereits mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert werden, sowie mit einer vorhandenen Metastasierung und einer

Rezidiv-Situation [63]. Bei einem der drei Patienten unserer Untersuchung könnte auch eine Pseudoproggression eine Rolle gespielt haben, die die Daten gegebenenfalls verzerrt. Gründe für den negativen Zusammenhang kann die kleine Fallzahl der Urothelkarzinome sein, aber auch deren schlechteres Ansprechen auf eine ICB gegenüber anderen Entitäten [64, 1]. Dadurch könnte die Rolle von GDF-15 unwichtiger sein.

## 4.4 Auffälligkeiten bezüglich anderer Variablen

Bei Patienten mit Fernmetastasierung war in unserer Studie die Baseline höher und der GDF-15-Spiegel stieg unter Therapie stärker an, als bei Patienten mit nur lokal fortgeschrittenen Tumoren ohne Fernmetastasierung. Dies passt zu Ergebnissen verschiedener bisheriger Studien. Beispielsweise konnte eine Untersuchung von Wang et al. ein signifikant höheren GDF-15-Spiegel im metastasierten Stadium vier des kolorektalen Karzinoms, als in den nicht-metastasierten Stadien eins bis drei ( $p < 0,0001$ ), nachweisen [35].

Ein Zusammenhang des GDF-15-Spiegels mit dem BMI wurde bereits in mehreren Studien untersucht und nachgewiesen. In dem vorgestellten Kollektiv hatten Patienten mit höherem BMI einen leicht höheren GDF-15-Spiegel vor Therapie, aber vor allem stieg dieser bei übergewichtigen Patienten unter Therapie besonders stark an. Beispielsweise fanden Vila et al. bei übergewichtigen Patienten ( $M = 0,427 \frac{ng}{ml}$ ) im Vergleich zu gesunden Probanden ( $M = 0,309 \frac{ng}{ml}$ ) einen höheren GDF-15-Spiegel [65]. Ding et al. vermutet ebenfalls eine Wirkung von GDF-15 auf das Fettgewebe [66]. Da die Patienten dieser Studien jedoch nicht onkologisch erkrankt waren, sind diese Erkenntnisse mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie nur begrenzt zu vergleichen, da GDF-15 in den jeweiligen Kontexten wahrscheinlich unterschiedliche Rollen einnimmt [5].

Die drei Patienten mit schweren Autoimmunreaktionen der ICB zeigten einen im Vergleich zum restlichen Kollektiv deutlich stärkeren Anstieg des GDF-15-Spiegels. Diese drei Fälle passen gut zu bisherigen Forschungsergebnissen, in denen davon ausgegangen wird, dass GDF-15 durch Stress induziert wird und im Zusammenhang mit Entzündungen besonders hohe Spiegel auftreten [30].

## 4.5 Bedeutung und Konklusion

Im Folgenden soll diskutiert werden, wie die Ergebnisse unserer Studie physiologisch erklärbar sein könnten, wie sie mit den bekannten Eigenschaften von GDF-15 vereinbar sind und welche Schlüsse daraus gezogen werden können.

Es existieren verschiedene Ideen, warum GDF-15 mit einer schlechteren Wirksamkeit der ICB zusammenhängen könnte. Neben verschiedenen bekannten Rollen im Körper wird GDF-15 als Mediator einer Immuntoleranz angesehen. Diese wird wahrscheinlich vermittelt, indem GDF-15 die Aktivierung zytotoxischer T-Zellen verhindert [22]. Das Ergebnis unserer Pilotstudie, dass ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel unter Therapie und dem Therapieergebnis einer ICB besteht, erscheint vor diesem Hintergrund plausibel, da diese Zellen für die Wirksamkeit der Therapie wichtig sind. Dass GDF-15 in der Lage ist einen Embryo vor den T-Zellen der Mutter zu schützen, macht glaubhaft, dass GDF-15 auch in der Lage sein könnte Tumorzellen vor T-Zellen zu schützen [47].

Eine andere Erklärung, wie GDF-15 die Tumorzellen schützen könnte, wurde von Luan et al. gezeigt. Die Autoren konnten für GDF-15 (bzw. die GDF-15/GFRAL/RET Signalkaskade) eine kardioprotektive Wirkung feststellen. Diese beruht darauf, die Leber beta-adrenerg zur Freisetzung hepatischer Triglyceride zu stimulieren, die kardioprotektiv wirksam sind. Daraus entstand die Frage, ob GDF-15 durch diesen Mechanismus auch protektiv auf Tumorzellen wirken kann [47, 5].

Modi et al. sehen in GDF-15 einen wichtigen Akteur bei der Tumorprogression und beschreiben ein Mitwirken bei der Epithelialen-mesenchymalen Transition, der Angiogenese, Metastasierung, Tumorzellapoptose, Chemo-Resistenz und früher Tumorgenese [40].

Untersuchungen haben ergeben, dass ein Zusammenhang zwischen der Wirksamkeit einer ICB und lokalen und systemischen Entzündungszeichen besteht (Leukozytenzahl, CRP, LDH) [41, 67, 68] über die ein hoher GDF-15-Spiegel eventuell auch mit einem schlechten Therapieergebnis zusammenhängen könnte.

Auffällig war, dass ein steigender GDF-15-Spiegel mit einem Therapieversagen der ICB zusammenhing. Sollte sich dieser Zusammenhang in weiteren Studien bestätigen, könnte dies derzeitige Überlegungen stützen, GDF-15 als möglichen Immuncheckpoint zu verstehen. Durch seine Hemmung könnte eine Erkennung der Krebszellen durch das Immunsystem erreicht werden, welches den Tumor dadurch angreifen könnte. Gegenwärtig werden Bemühungen unternommen, durch entsprechende Antikörper gegen GDF-15 die Wirksamkeit von Chemo-, Radio- und Immuntherapie verbessern zu können [47, 5].

Sehr interessant wäre es außerdem, dem von uns nur in einer Tendenz gefundenen Zusammenhang zwischen einem erhöhten GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn und einem Therapieversagen einer ICB nachzugehen. Sollte sich dieser Zusammenhang bestätigen,

könnte der GDF-15-Spiegel auch als ein prädiktiver Wert vor Beginn einer Immuntherapie genutzt werden.

## 4.6 Limitation und Ausblick

Bei unseren Untersuchungen handelte es sich um eine Pilotstudie mit einem kleinen Patientenkollektiv aus Patienten mit verschiedenen Tumorentitäten und kann daher keinen Anspruch auf eine repräsentative Stichprobe erheben. Die daraus resultierenden Ergebnisse konnten nur Trends aufzeigen, die eine kritische Betrachtung benötigen. Gegebenenfalls erleichtern sie jedoch die Entscheidung, weitere Untersuchungen anzustreben. Bei der Planung von Folgestudien sollten die Limitationen dieser Studie in Betracht gezogen werden.

Größer angelegte Studien sollten die Zusammenhänge jeweils in den verschiedenen Entitäten und mit den gleichen Therapieschemata untersuchen, um mögliche Störgrößen, wie eine schlechtere Ansprechrate einer Entität, zu verkleinern. Eine Untersuchung der einzelnen Entitäten ist besonders wichtig, da GDF-15 bei verschiedenen Erkrankungen verschiedene Rollen einnehmen kann [69], welche gegebenenfalls bei verschiedenen onkologischen Erkrankungen auch unterschiedliche Auswirkungen haben.

Außerdem könnte kurz nach der Baseline z. B. nach zwei Wochen, eine weitere Messung durchgeführt werden. Damit könnte man den GDF-15-Spiegel auch bei früh versterbenden Patienten untersuchen und prüfen, ob sich bereits Unterschiede zeigen. Eine Follow-Up Messung, z. B. nach zwölf Wochen, ist zusätzlich wichtig, da der Median des GDF-15-Spiegels bei Therapieversagen zu diesem Zeitpunkt noch höher lag als nach vier Wochen. Außerdem wäre es wichtig, das Therapieergebnis bei so vielen Patienten wie möglich mit iRECIST zu erfassen, um auf die Bewertung anhand der klinischen Präsentation der Patienten verzichten zu können.

Ein prädiktiver Wert des GDF-15-Spiegels vor Therapiebeginn müsste weiter untersucht werden, da er durch unsere Untersuchungen weder bestätigt noch widerlegt werden konnte. Insbesondere, da sich bei der Messung nur wenige Wochen später ein deutlicher Unterschied der GDF-15-Spiegel zwischen Therapieerfolg oder -versagen über Entitätsgrenzen hinweg zeigte, sollte in Folgestudien dieser Zusammenhang auch vor Therapiebeginn weiter erforscht werden. Es bleibt zu klären, ob es der GDF-15-Spiegel in Kombination mit anderen Biomarkern ermöglicht, eine passendere, individuelle Therapieentscheidung für onkologische Patienten zu treffen.

Unter Therapie konnte von uns ein Zusammenhang zwischen der Änderung des GDF-15-Spiegels und dem Therapieergebnis einer ICB gezeigt werden. Dieses Ergebnis bestärkt gegenwärtige Untersuchungen von GDF-15 als möglichen Immuncheckpoint und als Angriffsfläche zukünftiger Krebstherapien.





## 5 Zusammenfassung

Dank der Einführung von Immuncheckpointinhibitoren hat sich die Therapie fortgeschrittener onkologischer Erkrankungen in den letzten Jahren dramatisch verändert. Trotz außergewöhnlicher Erfolge profitieren viele Patienten jedoch weder akut noch langfristig von einer Behandlung, tragen aber alle ihre Risiken. Ein besseres Verständnis davon, bei welchen Patienten diese Therapieform wirkt, sowie prädiktive Marker werden daher dringend benötigt. Growth Differentiation Factor 15 (GDF-15) ist Teil der Transforming Growth Factor- $\beta$  Superfamilie, weist in pathologischen Situationen wie Entzündungen und insbesondere bei Krebs sehr hohe Spiegel auf und besitzt in verschiedenen, auch onkologischen Erkrankungen einen starken prognostischen Wert. Möglicherweise könnte GDF-15 durch seine immunmodulierenden Eigenschaften dazu beitragen, dass Krebszellen im Körper nicht angegriffen werden, und die Wirksamkeit einer Immuncheckpointblockade (ICB) dadurch vermindern.

Ziel der vorliegenden Pilotstudie war es zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen dem GDF-15-Spiegel und dem Erfolg einer ICB besteht.

Hierfür wurden 37 Patienten verschiedener onkologischer Entitäten vor Beginn einer ICB auf ihre GDF-15-Spiegel untersucht, sowie nach zwölf bzw. bei Progressive Disease zum Teil auch nach vier Wochen Therapie. Die Bewertung des Therapieergebnisses erfolgte anhand der RECIST sowie der klinischen Präsentation. Ein Therapieerfolg wurde ab Erreichen einer Stable Disease klassifiziert. Die Rekrutierungszeit betrug 23 Monate ab Januar 2017.

Die Untersuchungen zeigten vor Therapiebeginn einer ICB einen geringen Unterschied der GDF-15-Spiegel zwischen Patienten mit Therapieerfolg und Therapieversagen (Median des Therapieerfolgs:  $0,63 \frac{ng}{ml}$  versus Median des Therapieversagens:  $0,92 \frac{ng}{ml}$ ). Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant.

Dagegen zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem Anstieg des GDF-15-Spiegels unter Therapie und dem Therapieversagen einer ICB. Bei Therapieerfolg sank oder stagnierte der GDF-15-Spiegel im Median um  $-0,01 \frac{ng}{ml}$ . Dagegen stieg er bei Therapieversagen im Median um  $+0,7 \frac{ng}{ml}$  an ( $p < 0,01$   $r = 0,43$ ). Auch die Höhe des GDF-15-Spiegels unter Therapie zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit dem The-

rapieergebnis. Der GDF-15-Spiegel unter Therapie lag im Median bei Patienten mit Therapieerfolg bei  $0,72 \frac{ng}{ml}$ , dagegen bei Patienten mit Therapieversagen bei  $1,85 \frac{ng}{ml}$  ( $p < 0,01$ ,  $r = 0,47$ ).

Ob der GDF-15-Spiegel vor Therapiebeginn die Wirksamkeit einer ICB vorhersagen kann, bleibt unklar, da in dieser Studie nur eine Tendenz aufgezeigt werden konnte, die in Folgestudien mit größeren Kohorten in den verschiedenen Entitäten untersucht werden sollte. Unsere Daten zeigen jedoch einen Zusammenhang zwischen einem steigenden bzw. erhöhten GDF-15-Spiegel unter Therapie mit dem Therapieergebnis einer ICB. Dieser Zusammenhang fügt sich gut in das Bild gegenwärtiger Diskussionen über immunmodulierende Eigenschaften von GDF-15 und seiner Rolle bei der Tumorprogression. Zugleich bestärkt das Studienergebnis die Annahme, in GDF-15 auch ein vielversprechendes Angriffsziel therapeutischer Ansätze gefunden zu haben.

## 6 Literatur

- [1] Mizuki Nishino et al. „Monitoring immune-checkpoint blockade: response evaluation and biomarker development“. eng. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 14.11 (2017), S. 655–668. ISSN: 1759-4782. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.88. eprint: 28653677. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28653677/>.
- [2] W. Pönisch, R. Alten und C. Baerwald. „Autoimmunologische Reaktionen bei Immun-Checkpoint-Inhibitoren“. ger. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 76.Suppl 2 (2017), S. 57–62. DOI: 10.1007/s00393-017-0368-3. eprint: 29330759.
- [3] C. Lamos und R. E. Hunger. „Checkpoint-Inhibitoren – Indikation und Verwendung bei Melanompatienten“. ger. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 79.8 (2020), S. 818–825. DOI: 10.1007/s00393-020-00870-8. eprint: 32926216.
- [4] Alain Vergnenegre und Christos Chouaid. „Economic analyses of immune-checkpoint inhibitors to treat lung cancer“. eng. In: *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research* (2020). ISSN: 1744-8379. DOI: 10.1080/14737167.2021.1863790. eprint: 33306411. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33306411/>.
- [5] Jörg Wischhusen, Ignacio Melero und Wolf Herman Fridman. „Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From Biomarker to Novel Targetable Immune Checkpoint“. eng. In: *Frontiers in immunology* 11 (2020), S. 1–21. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00951. eprint: 32508832.
- [6] Caroline Robert. „A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy“. eng. In: *Nature communications* 11.1 (2020), S. 3801. DOI: 10.1038/s41467-020-17670-y. eprint: 32732879.
- [7] Ledford, H., Else, H. & Warren, M. „Cancer immunologists scoop medicine Nobel prize“. In: *Nature* 562 (2018) (), S. 20–21.
- [8] Julian Schardt. „Der Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren im onkologischen Alltag“. ger. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 79.8 (2020), S. 809–817. DOI: 10.1007/s00393-020-00876-2. eprint: 32936368.

- [9] Jia Xin Yu, Vanessa M. Hubbard-Lucey und Jun Tang. „The global pipeline of cell therapies for cancer“. eng. In: *Nature reviews. Drug discovery* 18.11 (2019), S. 821–822. DOI: 10.1038/d41573-019-00090-z. eprint: 31673124.
- [10] Celine Boutros et al. „Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination“. eng. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 13.8 (2016), S. 473–486. ISSN: 1759-4782. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.58. eprint: 27141885. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27141885/>.
- [11] Sabrina Ceeraz et al. „Immune checkpoint receptors in regulating immune reactivity in rheumatic disease“. eng. In: *Arthritis research & therapy* 16.5 (2014), S. 469. DOI: 10.1186/s13075-014-0469-1. eprint: 25606596.
- [12] Maria E. Suarez-Almazor et al. „Review: Immune-Related Adverse Events With Use of Checkpoint Inhibitors for Immunotherapy of Cancer“. eng. In: *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 69.4 (2017), S. 687–699. ISSN: 2326-5205. DOI: 10.1002/art.40043. eprint: 28085999. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28085999/>.
- [13] Douglas Hanahan und Robert A. Weinberg. „Hallmarks of cancer: the next generation“. eng. In: *Cell* 144.5 (2011), S. 646–674. ISSN: 1097-4172. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013. eprint: 21376230. URL: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(11\)00127-9?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867411001279%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(11)00127-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867411001279%3Fshowall%3Dtrue).
- [14] Jason J. Luke und Patrick A. Ott. „PD-1 pathway inhibitors: the next generation of immunotherapy for advanced melanoma“. eng. In: *Oncotarget* 6.6 (2015), S. 3479–3492. DOI: 10.18632/oncotarget.2980. eprint: 25682878.
- [15] Lucie Heinzerling et al. „Checkpoint Inhibitors“. eng. In: *Deutsches Arzteblatt international* 116.8 (2019), S. 119–126. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0119. eprint: 30940340.
- [16] Siegmund-Schultze, Nicola Dr. rer. nat. „Wie neue Substanzen in den Therapielinien vorrücken“. In: *Deutsches Aerzteblatt Online* (2019). DOI: 10.3238/PersOnko.2019.06.10.02.
- [17] Christian U. Blank et al. „CANCER IMMUNOLOGY. The cancer immunogram“. eng. In: *Science (New York, N.Y.)* 352.6286 (2016), S. 658–660. DOI: 10.1126/science.aaf2834. eprint: 27151852.

- [18] Lisa H. Butterfield et al. „SITC 2018 workshop report: Immuno-Oncology Biomarkers: State of the Art“. eng. In: *Journal for immunotherapy of cancer* 6.1 (2018), S. 138. ISSN: 2051-1426. DOI: 10.1186/s40425-018-0453-4. eprint: 30514399.
- [19] Giuseppe V. Masucci et al. „Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume I - pre-analytical and analytical validation“. eng. In: *Journal for immunotherapy of cancer* 4 (2016), S. 76. ISSN: 2051-1426. DOI: 10.1186/s40425-016-0178-1. eprint: 27895917. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27895917/>.
- [20] M. R. Bootcov et al. „MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily“. eng. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94.21 (1997), S. 11514–11519. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.94.21.11514. eprint: 9326641. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9326641/>.
- [21] Stephen Tong et al. „Serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC 1) as a predictor of miscarriage“. English. In: *The Lancet* 363.9403 (2004), S. 129–130. ISSN: 1474-547X. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)15265-8. eprint: 14726168. URL: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(03\)15265-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(03)15265-8/fulltext).
- [22] Zhizhong Zhou et al. „Growth differentiation factor-15 suppresses maturation and function of dendritic cells and inhibits tumor-specific immune response“. eng. In: *PLOS ONE* 8.11 (2013), e78618. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0078618. eprint: 24236027. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0078618>.
- [23] Yixin Zhang et al. „GDF15 Regulates Malat-1 Circular RNA and Inactivates NFkB Signaling Leading to Immune Tolerogenic DCs for Preventing Alloimmune Rejection in Heart Transplantation“. eng. In: *Frontiers in immunology* 9 (2018), S. 2407. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02407. eprint: 30425709.
- [24] Patrick Roth et al. „GDF-15 contributes to proliferation and immune escape of malignant gliomas“. eng. In: *Clinical Cancer Research* 16.15 (2010), S. 3851–3859. ISSN: 1557-3265. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0705. eprint: 20534737.
- [25] Jing Jing Li et al. „Growth Differentiation Factor 15 Maturation Requires Proteolytic Cleavage by PCSK3, -5, and -6“. eng. In: *Molecular and Cellular Biology* 38.21 (2018). ISSN: 0270-7306. DOI: 10.1128/MCB.00249-18. eprint: 30104250.

- [26] Heiko Johnen et al. „Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1“. eng. In: *Nature Medicine* 13.11 (2007), S. 1333–1340. ISSN: 1546-170X. DOI: 10.1038/nm1677. eprint: 17982462.
- [27] Qi Chen et al. „Serum levels of GDF15 are reduced in preeclampsia and the reduction is more profound in late-onset than early-onset cases“. eng. In: *Cytokine* 83 (2016), S. 226–230. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.05.002. eprint: 27173615.
- [28] Tibor Kempf et al. „Growth differentiation factor 15 predicts future insulin resistance and impaired glucose control in obese nondiabetic individuals: results from the XENDOS trial“. eng. In: *European journal of endocrinology* 167.5 (2012), S. 671–678. DOI: 10.1530/EJE-12-0466. eprint: 22918303.
- [29] Xue Bao et al. „Growth differentiation factor 15 is positively associated with incidence of diabetes mellitus: the Malmö Diet and Cancer-Cardiovascular Cohort“. eng. In: *Diabetologia* 62.1 (2019), S. 78–86. ISSN: 0012-186X. DOI: 10.1007/s00125-018-4751-7. eprint: 30350239.
- [30] Ramu Adela und Sanjay K. Banerjee. „GDF-15 as a Target and Biomarker for Diabetes and Cardiovascular Diseases: A Translational Prospective“. eng. In: *Journal of diabetes research* 2015 (2015), S. 490842. DOI: 10.1155/2015/490842. eprint: 26273671.
- [31] Asne R. Bauskin et al. „The TGF-beta superfamily cytokine MIC-1/GDF15: secretory mechanisms facilitate creation of latent stromal stores“. eng. In: *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 30.6 (2010), S. 389–397. DOI: 10.1089/jir.2009.0052. eprint: 20187768.
- [32] Sisi Li et al. „Maturation of growth differentiation factor 15 in human placental trophoblast cells depends on the interaction with Matrix Metalloproteinase-26“. eng. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99.11 (2014), E2277–87. ISSN: 1945-7197. DOI: 10.1210/jc.2014-1598. eprint: 25093616. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25093616/>.
- [33] Chen Li et al. „GDF15 promotes EMT and metastasis in colorectal cancer“. eng. In: *Oncotarget* 7.1 (2016), S. 860–872. DOI: 10.18632/oncotarget.6205. eprint: 26497212.
- [34] Piotr Hogendorf et al. „Growth differentiation factor (GDF-15) concentration combined with Ca125 levels in serum is superior to commonly used cancer biomarkers in differentiation of pancreatic mass“. eng. In: *Cancer biomarkers : section A of Disease markers* 21.3 (2018), S. 505–511. DOI: 10.3233/CBM-170203. eprint: 29171983.

- [35] Xiaobing Wang et al. „Circulating MIC-1/GDF15 is a complementary screening biomarker with CEA and correlates with liver metastasis and poor survival in colorectal cancer“. eng. In: *Oncotarget* 8.15 (2017), S. 24892–24901. DOI: 10.18632/oncotarget.15279. eprint: 28206963.
- [36] Dan Zhao, Xiaobing Wang und Wei Zhang. „GDF15 predict platinum response during first-line chemotherapy and can act as a complementary diagnostic serum biomarker with CA125 in epithelial ovarian cancer“. eng. In: *BMC Cancer* 18.1 (2018), S. 328. ISSN: 1471-2407. DOI: 10.1186/s12885-018-4246-4. eprint: 29580231.
- [37] John B. Welsh et al. „Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum“. eng. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100.6 (2003), S. 3410–3415. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.0530278100. eprint: 12624183.
- [38] David A. Brown et al. „Macrophage inhibitory cytokine 1: a new prognostic marker in prostate cancer“. eng. In: *Clinical Cancer Research* 15.21 (2009), S. 6658–6664. ISSN: 1557-3265. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3126. eprint: 19843661. URL: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/15/21/6658>.
- [39] Jérôme Galon et al. „Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome“. eng. In: *Science (New York, N.Y.)* 313.5795 (2006), S. 1960–1964. DOI: 10.1126/science.1129139. eprint: 17008531.
- [40] Anupama Modi et al. „Growth differentiation factor 15 and its role in carcinogenesis: an update“. eng. In: *Growth Factors* 37.3-4 (2019), S. 190–207. ISSN: 0897-7194. DOI: 10.1080/08977194.2019.1685988. eprint: 31693861.
- [41] M. Nyakas et al. „Prognostic biomarkers for immunotherapy with ipilimumab in metastatic melanoma“. eng. In: *Clinical & Experimental Immunology* 197.1 (2019), S. 74–82. ISSN: 1365-2249. DOI: 10.1111/cei.13283. eprint: 30821848. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cei.13283>.
- [42] Jonathan J. Havel, Diego Chowell und Timothy A. Chan. „The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy“. eng. In: *Nature Reviews Cancer* 19.3 (2019), S. 133–150. ISSN: 1474-1768. DOI: 10.1038/s41568-019-0116-x. eprint: 30755690.
- [43] Paul C. Tumeh et al. „PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance“. eng. In: *Nature* 515.7528 (2014), S. 568–571. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/nature13954. eprint: 25428505.

- [44] Steve Lu et al. „Comparison of Biomarker Modalities for Predicting Response to PD-1/PD-L1 Checkpoint Blockade: A Systematic Review and Meta-analysis“. eng. In: *JAMA Oncology* 5.8 (2019), S. 1195–1204. ISSN: 2374-2437. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.1549. eprint: 31318407. URL: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2738418>.
- [45] Kathryn E. Yost et al. „Clonal replacement of tumor-specific T cells following PD-1 blockade“. eng. In: *Nature Medicine* 25.8 (2019), S. 1251–1259. ISSN: 1546-170X. DOI: 10.1038/s41591-019-0522-3. eprint: 31359002.
- [46] Paola Bonaventura et al. „Cold Tumors: A Therapeutic Challenge for Immunotherapy“. eng. In: *Frontiers in immunology* 10 (2019), S. 168. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00168. eprint: 30800125.
- [47] Harding H. Luan et al. „GDF15 Is an Inflammation-Induced Central Mediator of Tissue Tolerance“. eng. In: *Cell* 178.5 (2019), 1231–1244.e11. ISSN: 1097-4172. DOI: 10.1016/j.cell.2019.07.033. eprint: 31402172.
- [48] Matthew M. Gubin et al. „Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens“. eng. In: *Nature* 515.7528 (2014), S. 577–581. ISSN: 0028-0836. DOI: 10.1038/nature13988. eprint: 25428507.
- [49] Jacob Cohen. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. eng. 2nd ed. Hoboken: Taylor and Francis, 1988. 567 S. ISBN: 9780805802832. URL: <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=1192162>.
- [50] E. A. Eisenhauer et al. „New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)“. eng. In: *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 45.2 (2009), S. 228–247. DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026. eprint: 19097774. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19097774/>.
- [51] Lawrence H. Schwartz et al. „RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee“. eng. In: *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 62 (2016), S. 132–137. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.03.081. eprint: 27189322.
- [52] Lesley Seymour et al. „iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics“. eng. In: *The Lancet Oncology* 18.3 (2017), e143–e152. ISSN: 14702045. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30074-8. eprint: 28271869.
- [53] Drew M. Pardoll. „The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy“. eng. In: *Nature Reviews Cancer* 12.4 (2012), S. 252–264. ISSN: 1474-1768. DOI: 10.1038/nrc3239. eprint: 22437870.



- [54] Liza C. Villaruz und Mark A. Socinski. „The clinical viewpoint: definitions, limitations of RECIST, practical considerations of measurement“. eng. In: *Clinical Cancer Research* 19.10 (2013), S. 2629–2636. ISSN: 1557-3265. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2935. eprint: 23669423.
- [55] Edward B. Garon et al. „Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer“. eng. In: *The New England journal of medicine* 372.21 (2015), S. 2018–2028. DOI: 10.1056/NEJMoa1501824. eprint: 25891174.
- [56] P. Vaňhara et al. „Growth/differentiation factor-15: prostate cancer suppressor or promoter?“ eng. In: *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 15.4 (2012), S. 320–328. ISSN: 1476-5608. DOI: 10.1038/pcan.2012.6. eprint: 22370725.
- [57] Henrike Arfsten et al. „GDF-15 in solid vs non-solid treatment-naïve malignancies“. eng. In: *European journal of clinical investigation* 49.11 (2019), e13168. DOI: 10.1111/eci.13168. eprint: 31463975.
- [58] Renske Altena et al. „Growth differentiation factor 15 (GDF-15) plasma levels increase during bleomycin- and cisplatin-based treatment of testicular cancer patients and relate to endothelial damage“. eng. In: *PLOS ONE* 10.1 (2015), e0115372. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0115372. eprint: 25590623.
- [59] Xingya Wang, Seung Joon Baek und Thomas E. Eling. „The diverse roles of nonsteroidal anti-inflammatory drug activated gene (NAG-1/GDF15) in cancer“. eng. In: *Biochemical pharmacology* 85.5 (2013), S. 597–606. ISSN: 1873-2968. DOI: 10.1016/j.bcp.2012.11.025. eprint: 23220538. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23220538/>.
- [60] Zhihao Lu et al. „Change of body weight and macrophage inhibitory cytokine-1 during chemotherapy in advanced gastric cancer: what is their clinical significance?“ eng. In: *PLOS ONE* 9.2 (2014), e88553. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0088553. eprint: 24586342.
- [61] Cheng-Zhe Yang et al. „Elevated level of serum growth differentiation factor 15 is associated with oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma“. eng. In: *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 43.1 (2014), S. 28–34. DOI: 10.1111/jop.12091. eprint: 23710769.
- [62] E. Schiegnitz et al. „GDF 15 as an anti-apoptotic, diagnostic and prognostic marker in oral squamous cell carcinoma“. eng. In: *Oral oncology* 48.7 (2012), S. 608–614. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2012.01.020. eprint: 22341306.

- [63] Lisa Traeger et al. „Serum Hepcidin and GDF-15 levels as prognostic markers in urothelial carcinoma of the upper urinary tract and renal cell carcinoma“. eng. In: *BMC Cancer* 19.1 (2019), S. 74. ISSN: 1471-2407. DOI: 10.1186/s12885-019-5278-0. eprint: 30646851.
- [64] Jonathan E. Rosenberg et al. „Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial“. eng. In: *The Lancet* 387.10031 (2016), S. 1909–1920. ISSN: 1474-547X. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4. eprint: 26952546.
- [65] Greisa Vila et al. „The relationship between insulin resistance and the cardiovascular biomarker growth differentiation factor-15 in obese patients“. eng. In: *Clinical chemistry* 57.2 (2011), S. 309–316. ISSN: 1530-8561. DOI: 10.1373/clinchem.2010.153726. eprint: 21164037.
- [66] Qi Ding et al. „Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes“. eng. In: *Endocrinology* 150.4 (2009), S. 1688–1696. ISSN: 0013-7227. DOI: 10.1210/en.2008-0952. eprint: 19074584. URL: <https://academic.oup.com/endo/article/150/4/1688/2455694>.
- [67] Alexander Martens et al. „Increases in Absolute Lymphocytes and Circulating CD4+ and CD8+ T Cells Are Associated with Positive Clinical Outcome of Melanoma Patients Treated with Ipilimumab“. eng. In: *Clinical Cancer Research* 22.19 (2016), S. 4848–4858. ISSN: 1557-3265. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0249. eprint: 27169993.
- [68] Campbell S. D. Roxburgh und Donald C. McMillan. „Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer“. eng. In: *Future oncology (London, England)* 6.1 (2010), S. 149–163. ISSN: 1744-8301. DOI: 10.2217/fon.09.136. eprint: 20021215. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20021215/>.
- [69] Shuichi Yatsuga et al. „Growth differentiation factor 15 as a useful biomarker for mitochondrial disorders“. eng. In: *Annals of neurology* 78.5 (2015), S. 814–823. ISSN: 1531-8249. DOI: 10.1002/ana.24506. eprint: 26463265. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26463265/>.

# Anhang



# A Studienpatienten

Fortl. Numm	Ge- Alter	schlecht	Tumor	Vorthherapien:				Therapie bei Studieneinschluss:		GDF-15 ng/ml			
				Metastasierung	Chemo	OP	Radiatio	PD-1/PD-L1-Achse	zusätzlich mit:		Therapieergebnis	Baseline	4.-Wo.-M.
#01	54	m	Plattenepithelkarzinom des Larynx	metastasiert	1	1	1	1	Durvalumab		Partial Remission	0.73	0.72
#02	61	w	Serös-papilläres Ovarialkarzinom	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	Anti-GTR	Progressive Disease	1.36	1.56
#03	62	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	Anti-GTR	Progressive Disease	1.2	1.58
#04	47	w	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	1	0	Nivolumab	Anti-GTR u. mTOR-I.	Progressive Disease	1.13	1.99
#05	50	w	Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle	metastasiert	1	1	1	0	Nivolumab	Anti-GTR	Progressive Disease	3.26	2.74
#06	53	m	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	0	0	0	PDR001	IAP-I, (LCL161)	Progressive Disease	5.68	32.02
#07	59	m	Neurokrines Karzinom der Lunge	lokal fortgeschritten	1	0	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Progressive Disease	0.59	0.42
#08	51	m	Plattenepithelkarzinom des Larynx	lokal fortgeschritten	0	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Stable Disease	0.3	0.18
#09	56	w	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Partial Remission	0.58	0.31
#10	53	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	lokal fortgeschritten	1	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Partial Remission	0.63	0.79
#11	83	m	Urothelkarzinom des Ureters	metastasiert	0	1	1	0	Pembrolizumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Complete Remission	1.38	0.78
#12	56	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Stable Disease	1.95	0.68
#13	50	m	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	1	1	PDR001	IAP-I, (LCL161)	Progressive Disease	1.87	2.78
#14	63	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	IAP-I, (LCL161)	Stable Disease	0.35	0.21
#15	71	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	lokal fortgeschritten	1	1	1	1	Nivolumab		Stable Disease	1.84	0.61
#16	53	w	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	0	0	0	Nivolumab		Progressive Disease	0.35	1.73
#17	36	m	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	1	1	PDR001	IAP-I, (LCL161)	Progressive Disease	0.25	0.43
#18	61	w	Urothelkarzinom der Blase	metastasiert	1	1	0	0	Pembrolizumab		Progressive Disease	0.91	1.04
#19	62	m	Adenokarzinom der Prostata	metastasiert	1	1	1	1	Pembrolizumab	PARP-I, (Olaparib)	Progressive Disease	0.73	1.16
#20	63	m	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	1	1	PDR001	IAP-I, (LCL161)	Progressive Disease	2.55	4.05
#21	59	w	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	0	0	Nivolumab	IAP-I, (LCL161)	Progressive Disease	0.28	0.64
#22	66	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	lokal fortgeschritten	1	1	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	0.52	0.49
#23	74	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	0.58	0.56
#24	66	w	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	0	1	1	Nivolumab	Anti-GTR	Partial Remission	0.5	1.61
#25	73	m	Plattenepithelkarzinom der Lunge	metastasiert	0	0	1	1	Pembrolizumab		Progressive Disease	0.6	1.16
#26	52	m	Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	1.22	2.33
#27	54	m	Großzelliges anaplastisches Karzinom der Lunge	metastasiert	1	0	1	1	Pembrolizumab	Chemo, Radiatio	Progressive Disease	3.37	23.96
#28	60	m	CUP, wenig differenziertes Adenokarzinom	metastasiert	1	0	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	0.61	1.94
#29	47	m	Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	1.48	2.99
#30	68	m	Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Progressive Disease	0.83	1.96
#31	67	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	lokal fortgeschritten	1	1	1	1	Nivolumab	CTLA-4-I, (Ipilimumab)	Stable Disease	0.19	0.46
#32	54	w	Adenokarzinom der Lunge	metastasiert	1	0	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	0.89	3.21
#33	80	m	Pleuramesothelom	metastasiert	1	0	1	1	PDR001	LAG-3-Inhibitor	Progressive Disease	0.49	0.65
#34	56	m	Kolorektales Adenokarzinom	metastasiert	1	1	1	1	Nivolumab		Progressive Disease	2.5	7.07
#35	43	m	Plattenepithelkarzinom der Nasenhöhle	metastasiert	1	0	1	1	Nivolumab		Stable Disease	1.07	1.65
#36	59	m	Plattenepithelkarzinom des Rachens	metastasiert	1	0	1	1	Nivolumab		Stable Disease	0.49	0.91
#37	64	m	Urothelkarzinom der Blase	metastasiert	1	1	1	0	Nivolumab		Partial Remission	1.73	6.91

0 = nein 0 = nein 0 = nein  
1 = ja 1 = ja 1 = ja

Abbildung A.1 Tabelle mit Überblick der einzelnen Studienpatienten



# B Dokumente zum Studienablauf

## B.1 Patienteninformation

**Universitätsklinikum Würzburg**

Anstalt des öffentlichen Rechts



### Patienteninformation

1 / 3

**Biomarker bei Immuntherapie (BioImmun-Studie):  
Beobachtungsstudie zur Analyse von Botenstoffen des Immunsystems im Blut  
von Patienten mit soliden Tumoren**

Version 1.2 vom 01.08.2017

—  
**Studienleiter:**

Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen

Prof. Dr. med. V. Kunzmann

—  
Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

—  
im Rahmen dieser Beobachtungsstudie sollen die Serumspiegel von bestimmten Botenstoffen des Immunsystems (MIC-1/GDF-15, Interferon- $\gamma$ , Perforin, Granzym A/B) vor und während der bei ihnen geplanten Tumorthherapie bestimmt werden. Diese Botenstoffe spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Entstehung und Progression von Tumoren sowie auch bei Überwachung von Tumorzellen durch das körpereigene Immunsystem. Diese Studie soll den prognostischen und prädiktiven Wert dieser Botenstoffe als Tumormarker im Verlauf der Therapie analysieren.

Hierfür wird bei Ihren regulär angeordneten Blutabnahmen zu drei angegebenen Zeitpunkten ein zusätzliches Serumröhrchen abgenommen.

—  
**Ablauf der Studie:**

Da die Bedeutung dieser Botenstoffe auf Therapieansprechen und Krankheitsverlauf zum Teil noch unerforscht sind, könnte die wiederholte Erhebung der Serumspiegel dieser Botenstoffe im Verlauf der Erkrankung wertvolle Informationen zum Verständnis von Tumorerkrankungen sowie auch für zukünftige Therapieoptimierungen liefern.

Wichtig ist natürlich den klinischen Verlauf mit den Serumspiegeln zu vergleichen, d.h. wir würden – Ihr Einverständnis vorausgesetzt – Ihren behandelnden Arzt über Ihren klinischen Zustand befragen und ggf. um Befundübermittlung bitten.

Version 1.2 vom 01.08.2017

**Abbildung B.1** Patienteninformation zur BioImmun-Studie (Seite 1)

28.01.2021



2/2

Vor Therapiebeginn sowie während der Therapie (ca. 2-4 Wochen und ca. 12 Wochen nach Therapiestart) wird hierzu bei regulären Kontrolluntersuchungen ein zusätzliches Serumröhrchen zu Analyse der Serumspiegel dieser Botenstoffe abgenommen. Ansonsten werden keine weiteren Untersuchungen benötigt.

#### Wo liegt der mögliche persönliche Nutzen?

Für Sie als Patient liegt in der Teilnahme an der Beobachtungsstudie kein spezieller persönlicher Nutzen. Wenngleich die Studie aus rein wissenschaftlichem, nicht aus kommerziellem Interesse durchgeführt wird, so könnten doch die Ergebnisse einen kommerziellen Wert haben und eine wirtschaftliche Nutzung nicht ausgeschlossen sein. Ein Eigentumsrecht an den Ergebnissen haben Sie als Einzelperson nicht.

#### WIE WIRD DIE VERTRAULICHKEIT GEWÄHRLEISTET? - DATENVERARBEITUNG UND DATENSCHUTZ

Alle im Rahmen dieser Studie erhobenen personenbezogenen Daten werden entsprechend der ärztlichen Schweigepflicht und den gesetzlichen Bestimmungen vertraulich behandelt. Die Weitergabe der Daten und ihre wissenschaftliche Auswertung erfolgen pseudonymisiert, d. h. ihr Name wird dazu durch eine Kenn-Nummer ersetzt, die ohne den entsprechenden Code, der nur den an dieser Studie beteiligten Ärzten vorliegt, nicht entschlüsselt werden kann. Gewonnene Daten werden zur Durchführung der wissenschaftlichen Analysen maximal 15 Jahre aufbewahrt und nicht an Dritte außerhalb der beteiligten Kliniken, insbesondere auch nicht zu kommerziellen Zwecken, weitergegeben. Die Ergebnisse der Studie werden in Form wissenschaftlicher Artikel in anonymisierter Form veröffentlicht.

#### Einwilligungserklärung, Freiwilligkeit und Abbruch der Teilnahme

Ihre Teilnahme an dieser Studie ist vollkommen freiwillig. Falls Sie sich für die Teilnahme an dieser Studie entscheiden, werden Sie gebeten, eine Einwilligungserklärung zu unterschreiben. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile von der Studie zurücktreten. Dies beeinflusst in keiner Weise die weitere Betreuung in unserer Klinik. Falls Sie sich entscheiden, Ihre Teilnahme an der Studie zu beenden, verständigen Sie bitte Ihren Studienarzt/-ärztin. Im Zuge ihres Widerrufs haben Sie auch das Recht, die Verarbeitung Ihrer personenbezogenen Daten zu stoppen; dieses wird dann umgehend erfolgen. Bereits erhobene wissenschaftliche Analysedaten können aber weiter zu Forschungszwecken verwendet werden, allerdings nur in pseudonymisierter Form (d.h. ohne Bezugsmöglichkeit zu Ihrer Person).

#### Weitere Informationen

Sollten Sie weitere Fragen zum Studienablauf und den mit der Studienteilnahme verbundenen Risiken oder zu Ihren Rechten als Studienteilnehmer haben, wenden Sie sich bitte an Ihren betreuenden Arzt oder die Studienleiter:

Version 1.2 vom 01.08.2017

### Abbildung B.2 Patienteninformation zur BioImmun-Studie (Seite 2)



28.01.2021



---

3/2

Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen



Prof. Dr. med. V. Kunzmann



Lassen Sie sich ausreichend Zeit für Ihre Entscheidung zur Teilnahme an der Studie und stellen Sie alle Fragen, welche für Ihr Verständnis wichtig sind.

Wir hoffen, durch unsere Aufklärung Ihr Verständnis für die Notwendigkeit zur Durchführung dieser Studie gefunden zu haben und bedanken uns für Ihre Kooperation.

Version 1.2 vom 01.08.2017

**Abbildung B.3** Patienteninformation zur BioImmun-Studie (Seite 3)

## B.2 Einwilligungserklärung

**Universitätsklinikum Würzburg**

Anstalt des öffentlichen Rechts



### Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme

1 / 2

**Biomarker bei Immuntherapie (BioImmun-Studie):  
Beobachtungsstudie zur Analyse von Botenstoffen des Immunsystems im Blut  
von Patienten mit soliden Tumoren**

Version 1.2 vom 01.08.2017

**Studienleiter:**

Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen

Prof. Dr. med. V. Kunzmann

— **Prüfärzte:** Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen, Dr. M.E. Goebeler, Prof. Dr. V. Kunzmann

**Kontakt:**

(Original für den/die Studienteilnehmer/in, Kopie für die Krankenakte)

Patient/in: \_\_\_\_\_  
(Name, Vorname)

Geb.-Datum: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_

— **Prüfarzt/Prüfärztin:** \_\_\_\_\_

Ich bin durch den behandelnden Arzt / behandelnde Ärztin über Ziel, Wesen, Bedeutung und Tragweite dieser nicht-interventionellen Studie aufgeklärt worden und hatte Gelegenheit, solange Fragen zu stellen, bis ich alle Punkte verstanden habe. Die von mir gestellten Fragen wurden beantwortet. Außerdem habe ich die vorangehende schriftliche Patienteninformation erhalten und gelesen. Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zur Teilnahme an dieser Studie frei zu treffen.

**Ich bin einverstanden, an dieser Studie teilzunehmen.**

Ich weiß, dass meine Teilnahme an der Studie vollkommen freiwillig ist und ich diese Einverständniserklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir hieraus Nachteile entstehen. Sollte ich die Studie abbrechen, werde ich dies dem behandelnden Arzt mitteilen.

Ich bin damit einverstanden, dass meine Daten im Zusammenhang mit dieser Untersuchung gespeichert, verarbeitet und in pseudonymisierter Form an die an der Durchführung und Auswertung

Version 1.2 vom 01.08.2017

**Abbildung B.4** Einwilligungserklärung zur BioImmun-Studie (Seite 1)

28.01.2021



2 / 2

dieser Studie beteiligten Personen weitergegeben werden darf. Dabei werden die Bestimmungen des geltenden Datenschutzes und die ärztliche Schweigepflicht eingehalten. Ich bin über die Möglichkeit, dass autorisierte Personen von Seiten zuständiger Behörden unter Wahrung der Vertraulichkeit falls erforderlich in Originalbefunde Einsicht nehmen können, informiert worden und erkläre mich damit einverstanden. Entsprechend der gesetzlichen Bestimmungen kann eine Weitergabe der im Rahmen der Studie erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten zur Überprüfung an die zuständigen Behörden erfolgen. Das zugehörige Kapitel "Datenverarbeitung und Datenschutz" der Patienteninformation zu dieser Studie habe ich gelesen und stimme dem beschriebenen Vorgehen zu.

Eine Kopie dieser Einverständniserklärung habe ich erhalten.

\_\_\_\_\_  
Datum - vom Studienteilnehmer einzutragen

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des/der Studienteilnehmer/in

Der Patient/die Patientin wurde von mir über Ziel, Wesen, Bedeutung, Tragweite sowie etwaige Risiken der Studie aufgeklärt.

\_\_\_\_\_  
Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Prüfarztes / der Prüfarztin

Version 1.2 vom 01.08.2017

**Abbildung B.5** Einwilligungserklärung zur BioImmun-Studie (Seite 2)

## B.3 Flyer für Ambulanzen

Einrichtungen: Experimentelle Tumorimmunologie der Frauenklinik, Early Clinical Trial Unit (ECTU) des CCC  
Mainfranken, Medizinische Klinik II Medical Oncology (ZIM) November 2017

### Biomarker bei Immuntherapie (BioImmun-Studie)

*Beobachtungsstudie zur Analyse von Botenstoffen des Immunsystems  
im Blut von Patienten mit soliden Tumoren*

**Bitte kontaktieren Sie uns VOR dem Therapiestart mit  
Immuncheckpoint-Inhibitoren. Vielen Dank!**

Im Zuge dieser Beobachtungsstudie sollen die Serumspiegel von bestimmten Botenstoffen des Immunsystems (MIC-1/GDF-15, Interferon- $\gamma$ , Perforin, Granzym A/B) vor und während der immunologisch-vermittelten Therapie untersucht werden. Insgesamt handelt es sich um **drei Blutentnahmen (vor Therapie, 2-4 Wochen nach und ca. 12 Wochen nach Therapiestart)**. Die Serumspiegel sollen in 2 Patientenkollektiven untersucht werden:

- 1) Patientinnen, die für eine anti-HER2-neu Therapie in Frage kommen.
- 2) Patienten mit fortgeschrittenen soliden Tumoren, die für eine Immuncheckpoint-Inhibition qualifizieren.

Hierbei sind wir auf Ihre Mithilfe angewiesen:

**Bitte kontaktieren Sie uns VOR dem Therapiestart mit Immuncheckpoint-Inhibitoren**, damit wir bei Einwilligung der Patienten die erste Blutentnahme vornehmen können.

Kontaktdaten der Doktorandinnen:

Anne Brückner:

[REDACTED]

Dorothea Dombrowski:

[REDACTED]

Tanja Leyh:

[REDACTED]

Studienleiter (für eventuelle Rückfragen)

Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen ( [REDACTED] )

Prof. Dr. med. V. Kunzmann ( [REDACTED] )

**Abbildung B.6** Flyer der BioImmun-Studie zur Information der Ambulanzen

# C Abkürzungsverzeichnis

**4.WM** 4.-Wochen-Messung

**12.WM** 12.-Wochen-Messung

**BL** Baseline

**BMI** Body-Mass-Index

**BSA** Bovine Serum Albumin

**bzw.** beziehungsweise

**CCC** Comprehensive Cancer Center

**CD** Cluster of differentiation

**CR** Complete Remission

**CTLA-4** Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

**CUP** engl. für Cancer of unknown primary

**ECTU** Early Clinical Trial Unit

**ELISA** Enzyme-linked Immunosorbent Assay

**GDF-15** Growth Differentiation Factor 15

**ICB** Immuncheckpointblockade

**ICI** Immuncheckpointinhibitor

**iRECIST** „immune-related“ Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

**LDH** Laktatdehydrogenase

**M.u.T.** Messwert unter Therapie

**MSI** Mikrosatelliten-Instabilität

**PBS** Phosphate Buffered Saline

**PD-1** Programmed Cell Death Protein-1

**PD** Progressive Disease

**PR** Partial Remission

**RECIST** Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

**SD** Stable Disease

**TGF-beta** Transforming Growth Factor- $\beta$

**TMB** Tetramethylbenzidine

**UICC** franz. für Union internationale contre le cancer

**z. B.** zum Beispiel

**ZIM** Zentrum für Innere Medizin





# D **Abbildungsverzeichnis**

1.1	Rolle von CTLA-4 und PD1/PD-L1 bei der Immunantwort auf Tumorzellen	3
1.2	Immunparameter für eine personalisierte Checkpoint-Inhibitor-Therapie	5
1.3	Immunmodulierende Eigenschaft von GDF-15	9
2.1	Studienablauf eines Patienten	15
2.2	GDF-15-Messungen mit Patientenzahlen im Studienverlauf	18
3.1	GDF-15 nach Therapieergebnis: Boxplots mit Interquartilsabstand	34
3.2	Therapieergebnisse aufgeteilt nach GDF-15-Grenzwerten	37
3.3	Baseline: Therapieergebnis nach klassifizierten GDF-15-Spiegeln	38
3.4	Baseline: Klassifizierte GDF-15-Spiegel nach Therapieergebnis	38
3.5	M.u.T.: Therapieergebnis nach klassifizierten GDF-15-Spiegeln	39
3.6	M.u.T.: Klassifizierte GDF-15-Spiegel nach Therapieergebnis	39
3.7	GDF-15-Änderung: Therapieergebnis nach klassifizierter GDF-15-Änderung	40
3.8	GDF-15-Änderung: Klassifizierte Änderung nach Therapieergebnis	40
A.1	Tabelle mit Überblick der einzelnen Studienpatienten	A 1
B.1	Patienteninformation zur BioImmun-Studie	B 3
B.4	Einwilligungserklärung zur BioImmun-Studie	B 6
B.6	Flyer der BioImmun-Studie zur Information der Ambulanzen	B 8



# E Tabellenverzeichnis

1.1	Zugelassene Indikationen für Checkpoint-Inhibitoren . . . . .	4
2.1	Gründe für fehlende 12.-Wochen-Messung . . . . .	19
2.2	Material: Aufbereitung der GDF-15-Proben . . . . .	20
2.3	Material: Inhalt des ELISA-Kit . . . . .	21
2.4	Material: Reagenzien für ELISA . . . . .	22
2.5	Material: Geräte und Verbrauchsmaterialien für ELISA . . . . .	22
3.1	Allgemeine Merkmale der Studienpatienten . . . . .	25
3.2	Tumorerkrankung und Therapie der Studienpatienten . . . . .	27
3.3	GDF-15-Baseline und Messungen unter Therapie: Median mit Wertebereich	30
3.4	Absolute GDF-15-Änderung: Median mit Wertebereich und Mittelwert .	30
3.5	Therapieergebnisse der Studienpatienten . . . . .	31
3.6	GDF-15 nach Therapieergebnis: Mediane und Patientenzahl . . . . .	33
3.7	Mann-Whitney-U-Test: GDF-15 bei Therapieerfolg- versus -Versagen . .	35
3.8	Rangkorrelation nach Spearman: GDF-15 und 4-stufiges Therapieergebnis	36
3.9	GDF-15-Spiegel/-Änderung und Fernmetastasierung: Mediane . . . . .	42
3.10	GDF-15-Spiegel/-Änderung und Body-Mass-Index: Mediane . . . . .	42



# F Danksagung

Die Jahre an der Universitätsklinik Würzburg in der Early Clinical Trial Unit waren sehr prägend für mich und ich bin dankbar für alle Erfahrungen, die ich dort während der Erstellung meiner Dissertation sammeln durfte. Sie waren der Grund für den Entschluss, meine Weiterbildung in der Hämatologie und Onkologie zu beginnen.

Ganz besonders möchte ich diesbezüglich Herrn Prof. Dr. med. Volker Kunzmann für sein Fachwissen, seine Konzepte und Anregungen sowie sein Vertrauen in mich danken. Diese Elemente waren der Grundstein dieser Arbeit.

Auch Frau Dr. med. Maria-Elisabeth Goebeler möchte ich meinen sehr herzlichen Dank aussprechen. Sie war die Konstante, die mir mit Rat und Tat in jeder Phase der Arbeit beiseite stand und mich auch als Ansprechpartnerin in schwierigen Situationen immer wieder motivierte.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Jörg Wischhusen danke ich für seine Forschung, die Ausgangspunkt für die durchgeführte Studie und diese Dissertation war sowie für seine Bewertung der Arbeit. Ich empfand es als Privileg, dass er seine herausragende Expertise in diesem Fachgebiet mit mir teilte und bin dankbar für die unkomplizierte, angenehme Zusammenarbeit. Die Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit sind im Wesentlichen ihm und den Mitarbeiterinnen seines Labors zu verdanken. Hier möchte ich besonders Frau Dr. Paula Romer-Roche hervorheben und bedanke mich für ihre Betreuung mit zahlreichen Erklärungen bei der Durchführung der Messungen im Labor.

Ein großes Dankeschön geht an meine beiden Mitstreiterinnen Anne Brückner und Tanja Leyh. Tanja danke ich für die Arbeit insbesondere zu Beginn der Studie, an die ich anknüpfen durfte. Anne danke ich für die fruchtbare Zusammenarbeit über vier Jahre hinweg bis heute, die mir große Freude bereitet und um eine Freundschaft bereichert hat. Auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Early Clinical Trial Unit gebührt mein ausdrücklicher Dank. Ihre Erklärungen und Einführung in professionelle Studienarbeit,

die zahlreichen Telefonate mit mir und ihre Hilfe bei Recherchen zu den Patienten haben mir sehr geholfen. Ausdrücklich ist hier Frau Gertrud Fragner mit ihrer beeindruckenden Geduld und immer freundlichen Hilfsbereitschaft zu nennen. Des Weiteren möchte ich Frau Gabriele Rothenbacher hervorheben, die den Großteil der Proben für die Studie aufgearbeitet hat.

Ich bin auch den Menschen sehr dankbar, die sich die Zeit genommen haben, Entwürfe dieser Arbeit zu lesen, und die zu verschiedenen Aspekten wertvolle Beiträge geleistet haben. Namentlich möchte ich hier gerne Dr.-Ing. David Wagner, Dr. med. vet. Christine Süß-Dombrowski und Johannes Dombrowski nennen. Für die Überprüfung der statistischen Ergebnisse und Beurteilung der gewählten Methoden danke ich sehr herzlich der Mitarbeiterin des Lehrstuhls für klinische Epidemiologie und Biometrie Frau Dr. rer. nat. Viktoria Rücker.

Mein tiefster Dank geht an meinen Partner, meine Familie und meine Freunde. Ohne sie würde ich heute nicht dort stehen, wo ich jetzt bin. Die Förderung durch meine Eltern kombiniert mit der nötigen Freiheit, ihre Motivation und ihr Rückhalt in allen Lebenslagen, haben den Abschluss dieser Dissertation ermöglicht. Meinem Bruder danke ich für zahlreiche motivierende Gespräche, aber auch für willkommene Ablenkungen. Meinen Großeltern danke ich für Ihre kontinuierliche Teilnahme an jedem Abschnitt meiner Ausbildung und ihr großes Interesse.

Zuletzt danke ich von ganzem Herzen dem wichtigsten Menschen, der mich auf unzählige Arten unterstützt hat, der mit seinem klugem Rat, seinem umfangreichen Wissen und als Vertrauter immer für mich da war, meinem Partner David.

# G Lebenslauf

## **Persönliche Daten**

Name Dorothea Dombrowski  
Geburtsdatum 14.09.1992  
Geburtsort Filderstadt

## **Schulbildung**

1999 - 2003 Grundschule Österfeldschule, Stuttgart  
2003 - 2012 Fanny-Leicht-Gymnasium, Stuttgart  
06/2012 Allgemeine Hochschulreife, Abschluss: 1,1

## **Freiwilligendienst**

2012 - 2013 Freiwilligendienst mit der Gesellschaft für internationale  
Zusammenarbeit (GIZ) in Manila, Philippinen

## **Stipendien**

01/2014 - 05/2020 Stipendiatin der Studienstiftung des deutschen Volkes

## **Hochschulausbildung**

10/2013 - 06/2020 Studium der Humanmedizin an der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Abschluss: sehr gut

## **Promotion**

08/2017 - jetzt Promotionsbezogenes Projekt an der Universität Würzburg

## **Beruf**

03/2021 Weiterbildung zur Fachärztin für Innere Medizin,  
Klinik für Hämatologie und Onkologie, Klinikum Stuttgart

Ort, Datum, Dorothea Dombrowski