Schlussbericht

Deutsches Zentrum für Lungenforschung (DZL)

Standort: Translational Lung Research Center Heidelberg

Partner: Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg

Förderkennzeichen: 82DZLR24A2

DZL Klinische Studie: Pilotstudie zur Exploration von Biomarkern im Rahmen der klinischen Studie "Sehr frühe Diffusions-MRT zum Therapiemonitoring beim Bronchialkarzinom" (ERT-BC-Biomarker)

Förderperiode: 01.07.2017 – 31.12.2018

Autoren: Michael Meister (Thoraxklinik), Marc Schneider (Thoraxklinik), Holger Sültmann (DKFZ), Sabina Janciauskiene (MHH), Birgit Teucher (UKHD)

Gefördert durch

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Baden-Württemberg
MINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFT, FORSCHUNG UND KUNST

Schlussbericht zum Verwendungsnachweis für das Vorhaben FKZ 82DZLR24A2

Zuwendungsempfänger: Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg

Vorhabenbezeichnung: DZL Klinische Studie: Pilotstudie zur Exploration von Biomarkern im Rahmen der klinischen Studie "Sehr frühe Diffusions-MRT zum Therapiemonitoring beim Bronchialkarzinom" (ERT-BC-Biomarker)

Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2017 – 31.12.2018

I. Kurze Darstellung des Vorhabens

Die Mission des DZL ist die „translationale Forschung zur Bekämpfung weitverbreiteter Lungenerkrankungen“ durch Einbeziehung der gesamten „bench-to-bedside“ - Kette in das Forschungsprogramm: von der Erforschung der molekularen „Fußabdrücke“ und Signalwege der Krankheiten in verschiedenen Labor- und Tiermodellen bis zur Nutzung der daraus gewonnen Daten zur Entwicklung und Umsetzung klinischer Studien sowie für die Patientenversorgung. Zur Verwirklichung dieser Mission fördert das Deutsche Zentrum für Lungenforschung in einem kompetitiven Verfahren durch DZL-Wissenschaftler initiierte innovative klinische Studien der Phase I und II.

Bei der im Folgenden dargestellten Pilotstudie handelt es sich um eine Erweiterung der wissenschaftlichen Fragestellung der bereits vom DZL-finanzierten ERT-BC Studie (FKZ82DZL14A2). Zurzeit gibt es noch keine systemischen Biomarker, die für ein frühes Therapieansprechen in der Klinik zur Anwendung kommen. Das Design der ERT-BC Studie, mit jeweils einem Untersuchungsarm für Chemostatika (Gruppe A) und Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (TKI; Gruppe B) bietet ideale Voraussetzungen, um die Eignung von neuen Biomarkern zur frühen Erkennung und Verlauf des Therapieansprechens zu prüfen. Mit der Pilotstudie werden erste Daten zur Variabilität der Biomarker erhoben und für eine Fallzahlbestimmung verwendet. Falls die Fallzahlbestimmung eine statistisch aussagekräftige Auswertung für die in der ERT-BC Studie untersuchten 150 Patienten voraussagt, dann besteht die Aussicht auf eine Überführung der Pilotstudie in eine vom DZL-finanzierte Vollstudie.

Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Sammlung der Blutproben im Rahmen der hier berichteten ERT-BC-Biomarker-Studie startete zum 01.07.2017 und hatte zum Ziel, verschiedene Biomarker bei initial 50 Patienten (jeweils 25 Patienten im Arm A und B) zu untersuchen (Abb. 1). Hierbei wurde bei der Gruppe A (Chemotherapie) Serum und Plasma von Patienten vor der Behandlung (Tag -1) und am Tag nach der Behandlung (Tag +1) abgenommen. Bei den Patienten, die mit einem

Tyrosinkinaseinhibitor (TKI) behandelt wurden (Gruppe B) wurden drei Zeitpunkte gewählt (Tag -1, +7 und +14), da davon ausgegangen wurde, dass die Medikamentengabe in Form von Tabletten zu einer verzögernden Aufnahme und Wirkung des TKIs führt.

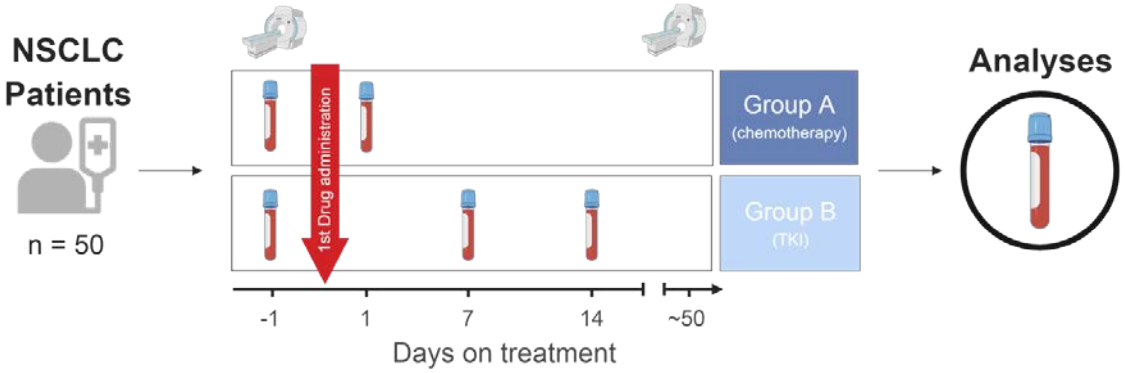


Abb.1: Übersicht des Studiendesigns für die explorative Biomarkerstudie

Ziel der Studie sollte sein, ob mit Hilfe der hier untersuchten Biomarker ein oder mehrere Biomarker geeignet sind, um das frühe Therapieansprechen bei Patienten mit einem NSCLC im späten Stadium anzuzeigen. Da es sich hier um eine explorative Pilotstudie handelt, sollte ebenso berechnet werden, welche Fallzahlen nötig wären, um ein valides Vorhersagemodell zu erreichen.

Wissenschaftlich und technischer Stand, an den angeknüpft wurde (Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte sofern relevant)

Der Ansatz der Untersuchung zum frühen Therapieansprechen mittels diffusions-MRT (DZL-ERT-BC-Studie) ist eine völlig neue und vielversprechende Methode, um die Therapie eines Patienten mit Bronchialkarzinom möglichst schnell anzupassen. Biomarker, die zu solch frühen Zeitpunkten möglicherweise unterstützend Einblicke zum Ansprechen einer Therapie geben könnten, sind nicht beschrieben. Daher bot die Durchführung der Biomarker-Studie ein großes Potential, um das Ansprechen bzw. Nicht-Ansprechen von Patienten auf eine Therapie möglichst früh zu erkennen. Hierbei wurden Biomarker auf verschiedenen Ebenen (DNA, RNA, Protein) mit verschiedenen Methoden (Sequenzierung, quantitative PCR, ELISA) gemessen, um ein möglichst breites Spektrum an Biomarkern auf deren Potential hin zu untersuchen. Am Standort TLRC wurden folgende Biomarker bestimmt: Glycodelin (Thoraxklinik), miRNAs (DKFZ), ctDNA (DKFZ). Am Standort BREATH wurden folgende Biomarker gemessen: Cytokeratin 18 (MHH), Gluthathion (MHH). Die Auswertung der Daten wurde standortübergreifend in mehreren Telefongesprächen und persönlichen Gesprächen festgelegt (z.B. im Rahmen des Lung Cancer Retreat in Hannover). Für die biostatistische

Auswertung wurde das Institut für Medizinische Biometrie und Informatik (IMBI) in Heidelberg hinzugezogen.

Inhalte und Ergebnisse (konkreter Nutzen und Anwendungsmöglichkeiten der Ergebnisse)

Die Sammlung der Blutproben von 50 Patienten konnte entsprechend der Planung im Sommer 2018 abgeschlossen werden. Dabei wurden 5 verschiedene Biomarker (insgesamt 23 Variablen) in den Proben untersucht. Während Cytokeratin 18, Gluthathion sowie die micro-RNAs in allen verwendeten Proben nachgewiesen werden konnten, war der Nachweis von Mutationen im Rahmen der Diagnostik nur bei 56% Patienten erfolgreich. Dies lag an der Sensitivität der Assays. So lagen einige der Mutationen unter der Nachweisgrenze und konnten daher nicht in die Analysen mit einbezogen werden. Auch bei Glycodelin war der Nachweis nur in 60 % der Patienten möglich. Aus früheren Studien war aber bereits bekannt, dass Glycodelin nicht von allen Patienten in ausreichender Menge produziert wird, um es im Blut der Patienten nachzuweisen.

Die Biomarker wurden zu den entsprechenden Blutprobenzeitpunkten gemessen. Die Änderung der Messwerte vom Messzeitpunkt (+1, +7 oder +14 Tage) zum Baseline-Zeitpunkt (-1) wurde in Korrelation zur Änderung der Tumorlast gesetzt. Diese wurde bestimmt, indem das prätherapeutische sowie das erste CT-Bild nach der Therapie von einem Radiologen in der Thoraxklinik ausgewertet wurden. Mit Hilfe des Biostatistikers wurden die erhaltenen Daten ausgewertet. Hierbei gab es drei Auswertungen (siehe auch Abb. 2): I) Es wurde zu jedem einzelnen Marker zu jedem Zeitpunkt betrachtet, ob er eine signifikante Veränderung der Tumorgröße anzeigt. II) Es wurden alle Marker zueinander in Korrelation gesetzt, um zu untersuchen, wie gut die Marker untereinander korrelierten. III) Es wurde eine multivariate Analyse durchgeführt, um zu untersuchen, welche Markerkombinationen aus jeweils den besten 5 Markern zu welchem Zeitpunkt die besten Korrelationen zum Therapieansprechen lieferten.

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Studie war als explorative, multizentrische Studie geplant. Die Rekrutierung des Biomaterials war für 1 Jahr veranschlagt und ausreichend. Hierbei gingen 48 Patienten aus dem Standort TLRC, jeweils ein Patient aus BREATH und aus UGMLC in die Analyse mit ein. Die Zuwendungen wurden wie im AZA veranschlagt von der Thoraxklinik zentral verwaltet. Die Zuwendungen beinhalteten Sachmittelkosten, die für die Analysen im Rahmen der explorativen Studie ausreichend waren. Es gab keine Zuwendungen für die Durchführung der Analysen. Gerade die Aufarbeitung des Plasmas für die Messungen der miRNA und der ctDNA allerdings war mit erheblichem zeitlichen Aufwand verbunden und durch einen Doktoranden der Arbeitsgruppe Sültmann durchgeführt worden. Die Koordination, der Versand der Proben sowie der benötigten Materialien und Kits wurde von der Thoraxklinik

organisiert. Die Zusammenarbeit der an der Auswertung beteiligten drei Institutionen (Thoraxklinik, DKFZ, MHH) hat reibungslos und in einem regelmäßigen Dialog stattgefunden. Die Zwischenergebnisse wurden regelmäßig besprochen. Für das DZL-Jahresmeeting 2019 wurde ein gemeinsames Poster entworfen. Die Erstellung einer gemeinsamen Publikation ist zum Zeitpunkt des Schlussberichts in Bearbeitung.

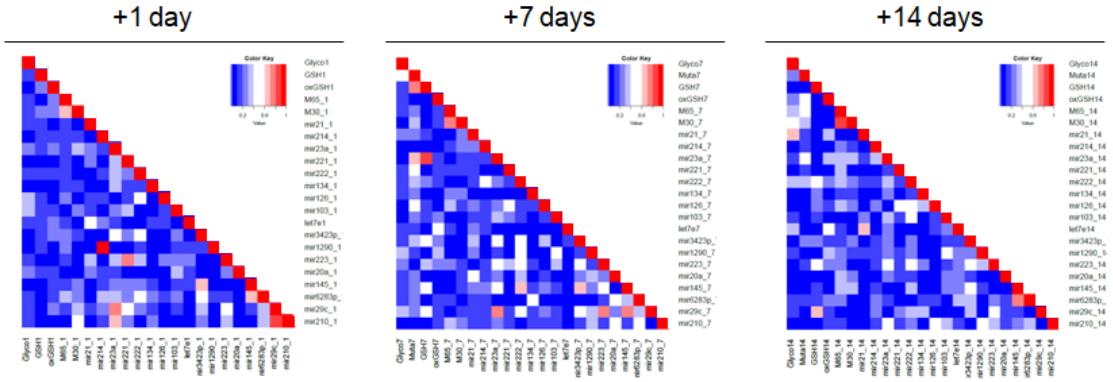
II. Eingehende Darstellung des Vorhabens

Das Ziel der explorativen Studie war die Untersuchung der verschiedenen Biomarker im Hinblick auf deren Potential, ein frühes Therapieansprechen des NSCLC aufzuzeigen und somit zur Therapiesteuerung beitragen zu können. Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, gab es hierbei drei Analysen, die durchgeführt und ausgewertet wurden. Die erste betrachtete die Korrelation jedes einzelnen Biomarkers mit dem Therapieansprechen und berechnete die einzelnen Signifikanzen für die 23 gemessenen Variablen. Hierbei zeigte sich, dass keiner der Biomarker über alle drei gemessenen Zeitpunkte als Marker signifikant mit dem Ansprechen der Patienten korrelierte (Abb. 2 A). Korrelationsanalysen (Abb. 2 B) der einzelnen Marker zueinander zeigten, dass durchaus Korrelationen zueinander bestanden (z.B. am Tag +7 zwischen Glycodelin und dem Level der detektierten Mutationen ($r = 0.502$) oder zwischen dem Level der Mutationen und GSH ($r = 0.715$)). Allerdings korrelierten die Werte nicht signifikant mit dem Ansprechen der Therapie. Bei der univariaten Analyse gab es insgesamt nur 5 Marker, die ein Signifikanzniveau < 0.05 erreichten (Abb.2 A). Die multivariate Analyse ergab, dass es mögliche Signaturen zu den einzelnen Zeitpunkten gibt, die das Ansprechen der Therapie gut wiedergeben (Abb. 2 C). Zusammenfassend zeigte die explorative Studie hier großes Potential auf einem bisher kaum beschriebenen Feld. Zu beobachten war allerdings, dass sich keiner der Biomarker für die Messung zu allen drei Zeitpunkten eignete. Die Tatsache, dass sich die möglichen Biomarkerkombinationen zu den drei Zeitpunkten unterscheiden, steht allerdings in keinem Widerspruch zu den Zielen, da ja im Rahmen dieser Studie überhaupt erst untersucht werden sollte, ob und zu welchem Zeitpunkt die Messung der Biomarker das Ansprechen der Therapie wiedergeben können. Auch muss hier erwähnt werden, dass die geringe Anzahl an Proben in Kombination mit den beiden Studienarmen und Detektionslimits dazu führte, dass nur 16 Proben in die multivariate Analyse eingegangen sind. So konnte z.B. die ctDNA-Analyse grundsätzlich nur im TKI-Arm durchgeführt werden ($n = 25$).
Aufschlussreich könnte es sein, die Ergebnisse der Biomarkerstudie mit den Ergebnissen der ERT-BC-Studie zu vergleichen, d.h. die Ergebnisse der Diffusions-MRTs zu den Zeitpunkten der Blutabnahmen mit einzuschließen. Da diese Studie aber erst in 2020 abgeschlossen wird, ist die Berücksichtigung der Ergebnisse zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich.

A

+1 day		+7 days		+14 days	
Biomarker	**p-value**	**Biomarker**	**p-value**	**Biomarker**	**p-value**
miR-210	0.01647157	miR-134	0.02013018	Mutation	0.01981996
oxGSH	0.10176711	miR-223	0.07642291	miR-23a	0.03644533
miR-29c	0.14748261	miR-20a	0.14469158	miR-134	0.04895505
M65	0.17457031	miR-145	0.17383917	let-7e	0.12364671
miR-103	0.24517045	miR-29c	0.17896793	M65	0.16992096

B



C

Time point	Biomarker combination	n	R^2	p-value
+1	oxGSH, M65, GSH, miR-103, miR-1290	16	0.7786	0.00017
+7	miR-134, miR-223, miR-20a, Glycodelin, miR-628-3p	19	0.7048	0.00026
+14	miR-23a, let-7e, miR-20a, miR-21, miR-342-3p	15	0.7109	0.00194

Abbildung 2. Ergebnisse der drei durchgeführten Analysen.

A) Berechnung der Signifikanz jedes Biomarkers für die Korrelation der Biomarkeränderung zur Änderung der Tumorgröße (Univariate Analyse, Lineares Regressionsmodell). Dargestellt sind die 5 besten Biomarker zu jedem Zeitpunkt.
B) Korrelationsplot der einzelnen Marker zueinander.
C) Multivariate Analyse der besten Biomarkerkombinationen zu den verschiedenen Zeitpunkten.

Auf Basis der vorliegenden Pilotstudienergebnisse ist nicht eindeutig erkennbar, welcher Zeitpunkt am besten geeignet ist, um das frühe Ansprechen der Therapie im Blut nachzuweisen. Betrachtet man die univariate Analyse (Abb. 2 A) mit den p-Werten, so scheint es aber, dass der Zeitpunkt +14 am geeignetsten für eine Fortführung der Studie wäre, da es dort drei statistisch signifikante Marker gab, die das Therapieansprechen aufzeigten, zu den anderen Zeitpunkten nur je einen. Da sich die Studienarme in ihren Messzeitpunkten unterschied (Arm A +1, Arm B: +7 und +14) ist es aber auch durchaus

denkbar, zwei Markerkombinationen für die beiden Arme zu verwenden. Die multivariaten Analysen (Abb. 2 C) weisen in diese Richtung, da sich die Markerkombinationen deutlich unterschieden. So waren im Arm A vor allem die Apoptosemarker vertreten, während im Arm B eher miRNAs und Glycodelin in der Kombination effektiv waren, um das Therapieansprechen aufzuzeigen.

Mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Informatik (IMBI) wurden die Ergebnisse abschließend bewertet hinsichtlich der Gruppengröße bzw. einer Fallzahlenkalkulation, um die Ergebnisse der explorativen Studie valide zu gestalten. Grundsätzlich ist eine Fallzahl von n = 25 nicht ausreichend, um einigermaßen stabile Regressionsmodelle zu erzeugen. Eine relative grobe Daumenregel von Green (1) besagt, dass ein Minimum von 50 Beobachtungen + 8 weitere Beobachtungen je weitere Variable mindestens notwendig sind, um einigermaßen stabile Regressionsmodelle zu erhalten. Für Modelle mit 5 Einflussvariablen wäre demnach mindestens eine Anzahl von 90 Beobachtungen pro Studienarm notwendig. Weiterhin muss festgelegt werden, welche stärke der Korrelation der Biomarker für die Studie gewünscht ist. Die Fallzahl von n = 25 ist nicht ausreichend um Schätzer für Korrelationen mit einer vertretbaren Genauigkeit zu erhalten. Die Genauigkeit kann über die Angabe der Breite des zugehörigen Konfidenzintervalls illustriert werden. Bspw. wäre für ein 95 % Konfidenzintervall zur Korrelation von 0.5 mit einer vorgegeben Breite von 0.2 (also 0.4-0.6) n = 246 Beobachtungen notwendig. Auf der anderen Seite, wenn eine Korrelation von 0.5 vorliegt und diese durch eine Fallzahl von n =25 berechnet worden ist, dann hätte ein Konfidenzintervall mit einer vorgegebenen Breite von 0.2 nur ein Konfidenzniveau von 0.5. Das bedeutet zu einer Wahrscheinlichkeit von nur 50 % überdeckt das Konfidenzintervall den wahren Wert.

Die ERT-BC-Studie hat zum Zeitpunkt der Berichterstattung bereits etwa 125 Patienten der geplanten 150 Patienten eingeschlossen. Eine Weiterführung der Biomarker-Studie wäre an die grundsätzliche Erweiterung der ERT-BC-Studie geknüpft, dessen Fortführung nach 2020 nicht geklärt ist. Um die Ergebnisse der Biomarker-Studie nichtsdestotrotz hochrangiger zu publizieren, haben wir seit 01/2019 begonnen, auf eigene Kosten zumindest im Arm B (TKI-Arm) die Blutprobensammlung und Analyse fortzuführen. In der Publikation möchten wir neben den statistischen Gesamtanalysen auch einige Einzelfall-Analysen zur bildlichen Darstellung verwenden. Es ist geplant, die Publikation zum Ende des Jahres 2019 fertigzustellen.

1. How Many Subjects Does It Take To Do A Regression Analysis AU - Green, Samuel B. Multivariate Behavioral Research. 1991;26(3):499-510.

III. Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms

- Nutzung von kompetitiven Mitteln des Deutschen Zentrums für Lungenforschung zur Förderung früher innovativer klinischer Studien.
- Standortübergreifende Verwendung von Biomaterialen und Patientendaten
- Bündelung der Expertise und Vernetzung der DZL-Forschungszentren.

2. Kurzfassung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse des Vorhabens

- Erfolgreiche, multizentrische Biomaterialsammlung
- Definition von Markerkombinationen für das Ansprechen der Therapie zu sehr frühen Zeitpunkten

3. Fortschreibung des Verwertungsplans

3.1 Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Keine.

3.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Keine.

3.3 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten und Anschlussfähigkeit

Die Biostatistische Power-Kalkulation ergibt, dass eine Studienfortführung und Validierung der Ergebnisse nur dann sinnvoll ist, wenn die Gruppengröße auf mindestens 90 Patienten pro Gruppe ausgeweitet wird. Die Fortführung ist somit nur möglich, wenn die Mutterstudie (DZL-ERT-BC) ausgeweitet wird, da zum Zeitpunkt der Schlussberichtserstattung bereits 125 von 150 Patienten eingeschlossen sind. Da die Fortführung der ERT-BC-Studie nach 2020 offen ist, haben wir die Sammlung und Analyse von Biomaterialien aus dem aus unserer Sicht vielversprechenderen Arm B (TKI-Arm) seit 01/2019 auf eigene Kosten fortgeführt. In der Publikation, die aus der ERT-Biomarkerstudie hervorgehen soll, möchten wir auch Einzelfälle aus dem Arm B zeigen.

3.4 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Keine.

3.5 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Die Ergebnisse der explorativen Studie wurden bei der Jahrestagung des Deutschen Zentrums für Lungenforschung 2019 als Poster vorgestellt. Die Daten werden nach Abschluss der über eigenen Mittel fortgeführten Analysen publiziert.

3.6 Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Die explorative Studie konnte in der veranschlagten Zeit fertiggestellt werden. Die Mittel für die Studie wurden im vorgegebenen Zeitraum der Studie verwendet. Es wurden keine zusätzlichen Mittel benötigt.

Heidelberg, den 28.02.2019

Dr. rer. nat. Michael Meister
Studienleiter

Appendix – Veröffentlichungen

Berichtszeitraum: 01.07.2017-31.12.2018

Poster

Jahnke, F. et al., **Analysis of blood-based biomarkers for the detection of early therapy response in advanced staged NSCLC.** German Center of Lung Research (DZL) Annual Meeting, 07.-08.02.2019, Mannheim, Deutschland

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung)
(nicht zutreffend)	Schlussbericht

3. Titel

Pilotstudie zur Exploration von Biomarkern im Rahmen der klinischen Studie "Sehr frühe Diffusions-MRT zum Therapiemonitoring beim Bronchialkarzinom" (ERT-BC-Biomarker)

4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)]	5. Abschlussdatum des Vorhabens
Michael Meister (TLRC- Thoraxklinik) Marc Schneider (TLRC - Thoraxklinik) Holger Sültmann (TLRC - DKFZ) Sabina Janciauskiene (BREATH – Medizinischen Hochschule Hannover) Birgit Teucher (TLRC – Universitätsklinikum Heidelberg)	31.12.2018
	6. Veröffentlichungsdatum N.N.
	7. Form der Publikation TIB Hannover

8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse)	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
TLRC: Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg Röntgenstraße 1 69126 Heidelberg Deutsches Krebsforschungszentrum Im Neuenheimer Feld 280 69120 Heidelberg Universitätsklinikum Heidelberg & Karl-Ruprechts-Universität Heidelberg Im Neuenheimer Feld 672 69120 Heidelberg BREATH: Medizinische Hochschule Hannover Carl-Neuberg Straße 1 30625 Hannover	(nicht zutreffend)
	10. Förderkennzeichen 82DZLR24A2 (TLRC)
	11. Seitenzahl 8

12. Fördernde Institution (Name, Adresse)	13. Literaturangaben
Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg, Königstraße 46, 70173 Stuttgart	
	14. Tabellen keine
	15. Abbildungen 2

16. Zusätzliche Angaben

Keine.

17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)

Helmholtz Zentrum München, München, 28.02.2018

18. Kurzfassung

Bei der im Folgenden dargestellten Pilotstudie handelt es sich um eine Erweiterung der wissenschaftlichen Fragestellung der bereits vom DZL-finanzierten ERT-BC Studie (FKZ82DZL14A2). Zurzeit gibt es noch keine systemischen Biomarker, die für ein frühes Therapieansprechen in der Klinik zur Anwendung kommen. Das Design der ERT-BC Studie, mit jeweils einem Untersuchungsarm für Chemostatika (Gruppe A) und Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (TKI; Gruppe B) bietet ideale Voraussetzungen, um die Eignung von neuen Biomarkern zur frühen Erkennung und Verlauf des Therapieansprechens zu prüfen. Ziel der Studie sollte sein, ob mit Hilfe der hier untersuchten Biomarker ein oder mehrere Biomarker geeignet sind, um das frühe Therapieansprechen bei Patienten mit einem NSCLC im späten Stadium anzuzeigen. Da es sich hier um eine explorative Pilotstudie handelt, sollte ebenso berechnet werden, welche Fallzahlen nötig wären, um ein valides Vorhersagemodell zu erreichen. Das Studiendesign der ERT-BC Studie beruht dabei auf zwei Studienarmen. Hierbei wurde bei der Gruppe A (Chemotherapie) Serum und Plasma von Patienten vor der Behandlung (Tag -1) und am Tag nach der Behandlung (Tag +1) abgenommen. Bei den Patienten, die mit einem Tyrosinkinaseinhibitor (TKI) behandelt wurden (Gruppe B) wurden drei Zeitpunkte gewählt (Tag -1, +7 und +14), da davon ausgegangen wurde, dass die Medikamentengabe in Form von Tabletten zu einer verzögernden Aufnahme und Wirkung des TKIs führt. Die Biomarker wurden zu den entsprechenden Blutprobenzeitpunkten gemessen. Die Änderung der Messwerte vom Messzeitpunkt (+1, +7 oder +14) zum Baseline-Zeitpunkt (-1) wurde in Korrelation zur Änderung der Tumorlast gesetzt. Diese wurde bestimmt, indem das prätherapeutische sowie das erste CT-Bild nach der Therapie von einem Radiologen in der Thoraxklinik ausgewertet wurden. Mit Hilfe des Biostatistikers wurden die erhaltenen Daten ausgewertet. Hierbei gab es drei Auswertungen: I) Es wurde zu jedem einzelnen Marker zu jedem Zeitpunkt betrachtet, ob er eine signifikante Veränderung der Tumorgröße anzeigt. II) Es wurden alle Marker zueinander in Korrelation gesetzt, um zu untersuchen, wie gut die Marker untereinander korrelierten. III) Es wurde eine multivariate Analyse durchgeführt, um zu untersuchen, welche Markerkombinationen aus jeweils den besten 5 Markern zu welchem Zeitpunkt die besten Korrelationen zum Therapieansprechen lieferten.
Bei I) zeigte sich, dass keiner der Biomarker über alle drei gemessenen Zeitpunkte als Marker signifikant mit dem Ansprechen der Patienten korrelierte. Korrelationsanalysen der einzelnen Marker zueinander zeigten, dass durchaus Korrelationen zueinander bestanden (z.B. am Tag +7 zwischen Glycodelin und dem Level der detektierten Mutationen ($r = 0.502$) oder zwischen dem Level der Mutationen und GSH ($r = 0.715$)). Allerdings korrelierten die Werte nicht signifikant mit dem Ansprechen der Therapie. Bei der univariaten Analyse gab es insgesamt nur 5 Marker, die ein Signifikanzniveau < 0.05 bezüglich der Korrelation zur Tumorlast erreichten. Die multivariate Analysen ergaben, dass es durchaus mögliche Signaturen zu den einzelnen Zeitpunkten gibt, die das Ansprechen der Therapie gut wiedergeben. Zusammenfassend zeigte die explorative Studie hier großes Potential auf einem bisher kaum beschriebenen Feld. Allerdings muss hier erwähnt werden, dass die geringe Anzahl an Proben in Kombination den beiden Studienarmen und Detektionslimits dazu führte, dass die Ergebnisse mit einer großen statistischen Unsicherheit zu werten sind. Auf Empfehlung des Biostatistikers sollte die Gruppengröße der beiden Studienarme auf mindestens je 90 Patienten erweitert werden, um valide Ergebnisse zu erhalten.

19. Schlagwörter

NSCLC, Early Response, Apoptosis Marker, Glycodelin, GSH, ctDNA, cytokeratin 18, miRNA

20. Verlag	21. Preis
(nicht zutreffend)	(nicht zutreffend)