

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus der Klinik
für internistische Onkologie und Hämatologie
mit integrierter Palliativmedizin der
Kliniken-Essen-Mitte

VEGF-Serum-Spiegel nach Chemoembolisation mit Irinotecan-beladenen
Drug-Eluting Beads als prognostischer oder prädiktiver Marker bei Patienten mit
Lebermetastasen kolorektaler Karzinome

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Sven Dyrda
aus Duisburg
2017

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer
1. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. M. Stahl
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. J. Treckmann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Juni 2018

Wissenschaftliche Beiträge bei internationalen Kongressen

1. World Congress on Gastrointestinal Cancer 2012

Changes in VEGF-A-serum levels after DEBIRI-TACE in patients with liver metastases of chemorefractory colorectal cancer.

S. Pluntke¹, S. Dyrda¹, A. Malik², H. Wilke¹, M. Stahl¹, R. Dappen², J.-A. Koch²

¹Klinik für internistische Onkologie und Hämatologie und

²Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie,
Kliniken Essen-Mitte, Essen, Germany

2. Interdisciplinary Treatment of Liver Tumors 2013

Changes in VEGF-A-serum levels after chemoembolization with Irinotecan loaded drug-eluting beads (DEBIRI) in patients with chemo refractory liver metastases of colorectal cancer

S. Dyrda¹, R. Dappen², A. Bachinger³, H. Wilke¹, M. Stahl¹, J.-A. Koch², S. Pluntke¹

¹Department of Medical Oncology Kliniken Essen-Mitte, Essen, Germany

²Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Kliniken Essen-Mitte, Essen, Germany

³ClinAssess GmbH, Leverkusen, Germany

3. European Society for Medical Oncology Congress 2014

Changes in VEGF-A-serum levels after chemoembolization with Irinotecan loaded drug-eluting beads (DEBIRI) in patients with chemorefractory liver metastases of colorectal cancer. Final results of 37 patients.

S. Pluntke S. Dyrda D. Strumberg A. Bachinger S. Wnendt H. Wilke R. Dappen J. Koch M. Stahl

Annals of Oncology, Volume 25, Issue suppl_4, 1 September 2014, Pages iv192,

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdu333.63>

Published: 01 September 2014

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	S. 10
1.1	Epidemiologie	S. 10
1.2	Therapie des lokalisierten kolorektalen Karzinoms	S. 10
1.3	Therapie des metastasierten kolorektalen Karzinoms	S. 11
1.3.1	Kurative Metastasen Chirurgie	S. 11
1.3.2	Palliative medikamentöse Therapie	S. 12
1.3.3	Angiogenese und deren Hemmung	S. 15
1.4	Regionale Therapieverfahren an der Leber	S. 20
1.4.1	Lokal-ablative Therapie	S. 20
1.4.2	Intraarterielle Therapieverfahren	S. 21
1.4.2.1	Transarterielle Chemoperfusion	S. 22
1.4.2.2	Selektive intraarterielle Radiotherapie	S. 22
1.4.2.3	Transarterielle (Chemo)-Embolisation	S. 23
1.5	Radiologische Auswertungsmethoden	S. 25
2.	Material und Methoden	S. 28
2.1	Fragestellung der vorliegenden Arbeit	S. 28
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien	S. 28
2.3	Patientencharakteristika	S. 29
2.4	Therapiedurchführung	S. 32
2.5	Kontrolluntersuchungen	S. 34
2.6	VEGF-Untersuchungen	S. 35
2.7	Datenerhebung	S. 35
2.8	Statistik	S. 36

3.	Ergebnisse	S. 37
3.1	Serumwerte für VEGF	S. 38
3.1.1	VEGF-Basalwerte	S. 39
3.1.2	VEGF-Verlauf	S. 43
3.2	Vorbehandlung mit Bevacizumab	S. 47
3.3	Radiologische Auswertung	S. 49
3.3.1	Auswertung nach RECIST	S. 50
3.3.2	Auswertung nach mRECIST	S. 51
3.4	Korrelation von VEGF und radiologischer Auswertung	S. 53
3.5	Weitere potentiell prognostische oder prädiktive Faktoren	S. 54
4.	Diskussion	S. 56
4.1	Gesamtüberleben im Vergleich zu anderen Salvagetherapien	S. 56
4.2	Klinische Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit unserer Therapie	S. 58
4.3	Die Methodik der radiologischen Auswertung und ihr Einfluss auf das Tumoransprechen als prognostischer oder prädiktiver Faktor	S. 60
4.4	VEGF –Verhalten und dessen Aussagekraft	S. 64
4.4.1	VEGF-Basalwerte	S. 64
4.4.2	VEGF-Verlauf	S. 67
4.4.3	VEGF und Vorbehandlung mit Bevacizumab	S. 68
4.4.4	Bevacizumabresistenz	S. 70
4.4.5	VEGF als prognostischer bzw. prädiktiver Faktor	S. 73
5.	Zusammenfassung	S. 77

6. Anhänge

A	Literaturverzeichnis	S. 78
B	Abbildungsverzeichnis	S. 88
C	Tabellenverzeichnis	S. 89
D	Abkürzungen	S. 90
E	Patientenaufklärung	S. 92
F	Patienteneinverständniserklärung	S. 94
G	Ethikvotum	S. 95
H	Lebenslauf	S. 97

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie

Das kolorektale Karzinom gehört zu den häufigsten Tumorerkrankungen weltweit und auch in Deutschland, wo im Jahr 2012 33.740 Männer und 28.490 Frauen an Darmkrebs erkrankten und es zu 25.972 Sterbefällen für beide Geschlechter kam (Krebs in Deutschland, 2015). Es ist die dritthäufigste Neoplasie bei Männern nach Prostata- und Bronchialkarzinom und die zweithäufigste bei Frauen nach dem Mammakarzinom. (Krebs in Deutschland, 2015). Die absolute Zahl der Neuerkrankungen war zuletzt rückläufig und die altersstandardisierten Sterberaten sind in den letzten 10 Jahren um ca. 20% zurückgegangen (Krebs in Deutschland, 2015). Mehr als die Hälfte der Patienten erkranken nach dem 70. Lebensjahr und nur etwa 10% vor dem 55. Lebensjahr (Krebs in Deutschland, 2015). Bei Erstdiagnose eines kolorektalen Karzinoms sind bereits ca. 25-30% der Tumoren metastasiert und im Verlauf der Erkrankung geschieht dies bei insgesamt ca. 50% der Patienten, wobei der bei weitem häufigste Metastasierungsort die Leber ist. (Adam et al, 2009; Peeters et al., 2014) Darmkrebs ist in Deutschland die dritthäufigste Krebstodesursache bei Frauen und die zweithäufigste bei Männern (Krebs in Deutschland, 2015). Die relative 5-Jahresüberlebensrate liegt für beide Geschlechter bei 63%, ist aber entscheidend davon abhängig, in welchem Stadium die Erkrankung entdeckt wird (Krebs in Deutschland, 2015). Sie liegt heute bei bis zu 95% im Stadium I und ca. 60% im Stadium III (Labianca et al, 2013). Die Prognose von Patienten im Stadium IV ist sehr unterschiedlich, je nach Lokalisation der Metastasen und Therapie, die beim jeweiligen Patienten durchgeführt werden kann. Selbst bei erst sekundär kurativ resektablen Metastasen sind heute 5-Jahres-Überlebensraten von bis zu 45% möglich (Folprecht et al., 2014).

1.2 Therapie des lokalisierten kolorektalen Karzinoms

Die Therapie des kolorektalen Karzinoms ist in den UICC-Stadien I – III immer potentiell kurativ, wobei die Prognose stadienabhängig abnimmt und das Rezidivrisiko in den höheren Stadien deutlich ansteigt. Die komplette Tumorentfernung (R0-Resektion) ist notwendige Voraussetzung zur Heilung. Im Stadium I ist die alleinige Operation Therapie der Wahl. Zur Verbesserung der Prognose in den Stadien II und III ist ein interdisziplinäres Vorgehen notwendig, welches neben der Operation eine neoadjuvante oder adjuvante Chemotherapie bzw. Radiochemotherapie umfasst. In diesen Stadien kommt es nach alleiniger chirurgischer Therapie eines Kolonkarzinoms

in ca. 25% (St. II) bis zu ca. 50% (St. III) zu einem Rezidiv, während nach adjuvanter Chemotherapie mit 5-Fluorouracil und Folinsäure das Rezidivrisiko auf unter 20 bzw. unter 40% gesenkt werden konnte (Wilkinson et al., 2010). Die Hinzunahme von Oxaliplatin erbrachte im Stadium III eine zusätzliche Verbesserung des Gesamtüberlebens nach 6 Jahren um ca. 4% (Andre et al. 2009).

Beim Rektumkarzinom wird in den lokal fortgeschrittenen Stadien (T 3/4, N+) eine präoperative Radiochemotherapie mit 5-FU oder seinen oralen Prodrugs empfohlen. Eine postoperative Strahlenchemotherapie zeigt zwar ähnliche Ergebnisse bezüglich der Rate an Fernmetastasen, DFS und OS wie die präoperative, allerdings ist sie mit einer erhöhten Toxizität (40% vs. 27%) und damit einer geringeren Compliance (54% vs. 92%) verbunden (Kye & Cho, 2014). Die Lokalrezidivrate nach 10 Jahren liegt bei 7,1% für die präoperative Radiochemotherapie und bei 10,1 % für die postoperative (Kye & Cho, 2014).

1.3 Therapie des metastasierten kolorektalen Karzinoms

Im Stadium IV liegt eine metastasierte Erkrankung vor, welche bei den meisten Patienten eine palliative Behandlung erfordert. Allerdings kann auch hier in einigen Fällen noch eine potentiell kurative Behandlung erfolgen, sofern Metastasen vorliegen, die komplett reseziert werden können, v.a. in Leber und/oder Lunge. Leitlinien fordern daher, dass primär im Rahmen einer interdisziplinären Tumorkonferenz eine Einteilung der Metastasen in primär resektabel, potentiell resektabel und nicht-resektabel erfolgt. Neben der Erreichbarkeit einer R0-Situation, spielen auch Faktoren wie Operabilität des Patienten und Organfunktion eine Rolle, um die Resektabilität einzuschätzen.

1.3.1 Kurative Metastasen Chirurgie

Ca. 10% der Patienten mit Lungenmetastasen können primär reseziert werden. Validierte prognostische Scores existieren zurzeit für diese Situation nicht. Eine Metaanalyse von 17 Fallbeobachtungsstudien mit über 1600 Patienten zeigte als wahrscheinlich unabhängige prognostische Marker den CEA-Wert, Anzahl der pulmonalen Herde und die Chance auf R0-Resektion (Pfannschmidt et al., 2007). Das 5-Jahresüberleben schwankte zwischen 38,3% und 63,7% mit einem Median von 52,5% (Pfannschmidt et al., 2007).

Etwa 10-25% der Patienten mit Lebermetastasen sind für eine primäre Resektion geeignet (Fedorowicz et al., 2011). Prognosescores, wie z.B. der Fong-Score, zeigen an, wie hoch die

Wahrscheinlichkeit für ein Langzeitüberleben nach primärer Lebermetastasenresektion ist. Dieser umfasst die folgenden Faktoren, für die jeweils ein Punkt vergeben wird: Lymphknotenpositiver Primarius, krankheitsfreies Überleben < 12 Monate, mehr als 1 Lebermetastase, Größe der Metastase >5 cm, präoperatives CEA > 200 ng/ml (Clark & Smith, 2014; Matias et al, 2015). Bei einem Score von 0 Punkten zeigte sich bei Fong eine 5-Jahresüberlebensrate von 60%, bei 5 Punkten von nur noch 14% (Clark & Smith, 2014; Matias et al, 2015). In den letzten Jahren konnte allerdings durch effektivere Chemotherapie und zusätzliche Maßnahmen die Überlebensrate nach 5 Jahren für die metastasierten und kurativ-operablen Patienten auch mit hoher Punktzahl im Fong-Score auf ca. 30% angehoben werden (Clark & Smith, 2014). Die 5-Jahresüberlebensrate wird insgesamt mit ca. 40%, in einigen Studien mit bis fast 60%, die 10-Jahresüberlebensrate immerhin noch mit ca. 20% angegeben (Clark & Smith, 2014; Fedorowicz et al., 2011). Bei Rezidiven nach Lebermetastasenresektion können immer noch ca. 30% erneut reseziert werden, wobei sich nach erneuter R0-Resektion noch 5-Jahresüberlebensraten von 20-30% erzielen lassen (Fedorowicz et al., 2011). Auch Patienten die neben resektabler Lebermetastasen weitere Tumormanifestationen haben, können kurativ behandelt werden, sofern alle Metastasen einer R0-Resektion unterzogen werden können. In einer Metaanalyse aus 22 Studien mit über 1100 Patienten zeigen sich 5-Jahres-Überlebensraten zwischen 8% und 38%, je nach Lokalisation der extrahepatischen Manifestationen. (Clark & Smith, 2014,)

Grenzwertig resektable Lebermetastasen können einer präoperativen Therapie bedürfen, um eine bessere Resektabilität zu erreichen. Insbesondere Hochrisikopatienten (≥ 4 Metastasen, synchrone Lebermetastasen, $\text{CEA} \geq 200 \text{ mg/ml}$) profitieren von einer präoperativen Chemotherapie, die das Überleben verbessern kann (Matias et al., 2015). Zwischen 10% und 35% der Patienten mit initial nicht-resektablen Lebermetastasen können sekundär reseziert werden mit 5-Jahresüberlebensraten von ca. 30 - 45% (Adam et al., 2009; Clark & Smith, 2014; Folprecht et al., 2014). Für das optimale Downsizing primär nicht oder nicht sicher resektabler Leber- oder auch Lungenmetastasen ist heute die Kombinationschemotherapie in der Regel mit einem monoklonalen Antikörper etabliert. (Clark & Smith, 2014). Es liegen aber auch Daten zu regionalen Therapieverfahren in dieser Situation vor (Kap. 1.4.2.3).

1.3.2 Palliative medikamentöse Therapie

Die sequentielle Therapie mit Zytostatika und monoklonalen Antikörpern, sowie mittlerweile auch mit Multikinaseinhibitoren und Fusionsproteinen, ist heute fester Bestandteil einer leitliniengerechten Behandlung des metastasierten kolorektalen Karzinoms.

5-Fluorouracil (5-FU) wurde bereits 1957 entwickelt und ist bis heute wesentlicher Bestandteil der zytostatischen Therapie des Kolonkarzinoms mit zahlreich nachgewiesener Effektivität bezüglich der Verbesserung der Überlebenszeit der Patienten (Gustavsson et al., 2015). 5-FU, ein Pyrimidinanalogon, gehört zur Gruppe der Antimetaboliten, das intrazellulär in seine aktiven Metaboliten umgewandelt wird, welche die DNA-Synthese hemmen (Panczyk, 2014). Die Hinzunahme von Folsäure verstärkt diese Hemmung und erhöht somit die antitumorale Wirkung (Panczyk, 2014, Gustavsson et al., 2015). Mittlerweile stehen auch orale Prodrugs von 5-FU (z.B. Capecitabin und S1) zur Verfügung, die in Studien äquivalente Ergebnisse zeigten (Gustavsson et al., 2015).

Die Kombination von 5-FU bzw. Capecitabin mit Irinotecan und Oxaliplatin konnte die Therapieergebnisse weiter verbessern.

Irinotecan oder CPT-11, ein synthetisches Analogon des natürlich vorkommenden Alkaloids Camptothecin, ist ein Topoisomerase-I-Hemmstoff, der irreversible DNA-Strangabbrüche induziert und somit eine DNA-Replikation verhindert und damit den programmierten Zelltod einleitet (Fujita, 2015). Irinotecan wird überwiegend in der Leber, aber auch im Plasma und im Gastrointestinaltrakt, durch Carboxylesterasen hydrolysiert, wodurch sein aktiver Metabolit SN38 entsteht (Panczyk, 2014). Letzterer wird ebenfalls in der Leber durch Glucosyltransferasen zu seinem inaktiven Abbauprodukt SN38G glucuronidiert und sowohl über die Gallensäuren als auch über den Urin ausgeschieden (Panczyk, 2014). Im Darm kann SN38G über bakterielle Glucuronidasen in seine aktive Form rückverwandelt werden, was zu einer verstärkten Diarrhoe als Nebenwirkung führen kann (Panczyk, 2014).

Oxaliplatin ist ein Platinderivat der 3. Generation und bindet vor allem an Guaninnukleotide der DNA, wodurch es zu Quervernetzungen und damit zu einer Synthesehemmung kommt. (Panczyk, 2014)

Irinotecan zeigte als Monotherapie gegenüber best supportive care, in der Kombination mit Bolus-5-FU/Leucovorin im Vergleich zu Bolus-5-FU/Leucovorin allein, sowie in der Kombination mit Bolus-5-FU, Leucovorin und infusionalem 5-FU gegenüber einer 5-FU/Leucovorin-Therapie, eine Verbesserung der Remissionsraten, des PFS und des OS, und das sowohl in der Erstlinien-, als auch in der Zweitlinientherapie (Fujita, 2015). Aufgrund der hohen Toxizität einer alleinigen 5-FU-Bolusgabe, wird heutzutage das infusionale Regime mit oder ohne zusätzlichen Bolus bevorzugt (Fujita, 2015). Oxaliplatin zeigte in der Kombination mit infusionalem 5-FU eine Verbesserung der Ansprechraten, des PFS und des Gesamtüberlebens, sowohl gegenüber 5-FU allein, als auch gegenüber der Kombination aus Bolus-5-FU und Irinotecan (IFL) (Gustavsson et al., 2015, Fujita,

2015). Die Effektivität der Kombinationstherapie (FOLFOX) entsprach der einer Kombination aus infusionalem 5-FU, Leucovorin und Irinotecan (FOLFIRI) (Gustavsson et al., 2015). Auch die Sequenz dieser beiden Regime zeigte eine gute Effektivität, wobei die Abfolge keinen Unterschied aufwies (Gustavsson et al., 2015). Die Kombination aus allen drei Medikamenten (FOLFOXIRI) konnte gegenüber FOLFIRI ebenfalls Ansprechraten, PFS und OS verbessern, allerdings zeigte sich auch hier eine erhöhte Nebenwirkungsrate (Gustavsson et al., 2015).

TAS-102 ist eine oral zu verabreichende fixe Kombination aus dem bereits in den 1950er Jahren entwickeltem Zytostatikum Trifluridin, einem Thymidinanalogon, welches als falsche Base direkt in die DNA eingebaut wird, und dem Thymidinphosphorylaseinhibitor Tipiracil, welches einen raschen Abbau von Trifluridin verhindert (Mayer et al., 2015). In einer Phase III Studie an 800 multipel vorbehandelten Patienten, konnte das Gesamtüberleben im Vergleich zu Placebo von 5,3 auf 7,1 Monate verbessert werden. (Mayer et al., 2015)

Der epidermal growth factor receptor (EGFR) oder auch HER-1 (human epidermal growth factor receptor 1) ist ein transmembranöses Glykoprotein, welches bei kolorektalen Karzinomzellen vermehrt exprimiert wird und mit einer höheren Metastasierungswahrscheinlichkeit und einer schlechteren Prognose einhergeht (Lenz, 2007, Gong et al., 2016). Cetuximab und Panitumumab sind monoklonale Antikörper, die spezifisch an den EGF-Rezeptor binden und somit eine Ligandenbindung verhindern, wodurch es zu einer Hemmung der nachfolgenden Signalkaskaden und damit zu einer Verminderung der Proliferation, sowie zur Apoptoseinduktion kommt (Lenz, 2007).

Diverse Studien haben die Wirksamkeit beider Antikörper unter Beweis gestellt, sowohl in der Monotherapie nach Versagen der herkömmlichen Chemotherapie, wie auch als Kombinationspartner zur Chemotherapie, und dies in unterschiedlichen Therapielinien (Gong et al, 2016). Subgruppenanalysen haben gezeigt, dass nur Patienten mit einem sogenannten Wildtyp des ras-Protoonkogens von einer Therapie mit einem EGFR-Antikörper profitieren (Gong et al, 2016). Patienten mit einer ras-Mutation zeigen ein schlechteres Therapieansprechen, wenn ein EGFR-Antikörper zur konventionellen Chemotherapie appliziert wird, als mit der Chemotherapie allein (Gong et al, 2016). In der adjuvanten Therapie konnte die Zugabe eines EGFR-Inhibitors (Cetuximab) allerdings keinen Benefit erbringen (Alberts et al., 2012).

1.3.3 Angiogenese und deren Hemmung

Angiogenese beschreibt die Neubildung von Blutgefäßen aus bereits bestehenden Gefäßen, im Gegensatz zur Vaskulogenese, bei der sich die Gefäße aus noch undifferenzierten Vorläuferzellen entwickeln (Hofheinz et al., 2013). Die Angiogenese findet physiologisch z.B. bei der Wundheilung, der Kollateralenbildung oder beim Aufbau der Uterusschleimhaut statt (Kieran et al., 2012). Sie unterliegt einem Gleichgewicht zwischen endogener Angiogenesestimulation und –inhibition (Kieran et al., 2012). Inhibitoren sind z.B. Angiostatin und Endostatin, sowie einige Interferone und Interleukine, aber auch splice-Varianten von Wachstumsfaktoren (Koch & Claesson-Welsh, 2012; Kieran et al., 2012). Zu den Stimulatoren gehören u.a. der placental growth factor (PlGF), der platelet derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factors (FGF's) und der vascular endothelial growth factor (VEGF) (Kieran et al., 2012).

Eine Tumorzellkolonie versorgt sich zunächst durch Diffusion mit den notwendigen Nährstoffen und Sauerstoff, was aufgrund des negativen Oberflächen/Volumen-Verhältnisses nur bis zu einer Größe von 1-2 mm³ möglich ist (Hofheinz et al., 2013). Bei weiterem Wachstum kommt es durch zunehmende Hypoxie zum sogenannten angiogenic switch, bei dem es zu einer vermehrten Bildung gefäßwachstumsstimulierender Faktoren im Tumor kommt (Hofheinz et al., 2013). Dies führt zu einer bis zu 35-fach gesteigerten Endothelzellproliferation, aber auch schwachen Zell-Zell-Verbindungen und zu einer abnormen Ausbildung perivaskulärer Zellen, wie z.B. Perizyten und glatten Muskelzellen, die physiologisch eine Stabilisierung und ein zielgerichtetes Wachstum des Gefäßbettes bewirken würden, wodurch letztendlich unreife Gefäße entstehen (Dreves et al., 2007; Goel et al., 2011). Die Tumorgefäße sind häufig fenestriert, dilatiert und stark verzweigt, was zu einer ungleichmäßigen Durchblutung des Tumors führt, mit hyperperfundierten und hypoxischen Arealen (Hofheinz et al., 2013).

Einer der wichtigsten Angiogenesestimulatoren ist der vascular endothelial growth factor (VEGF), der aus verschiedenen Proteinen besteht, denen eine 100 Aminosäuren große VEGF-homologe Domäne gemeinsam ist und zu dessen Familie VEGF A bis D, sowie PlGF gehören (Dreves et al., 2007). Von ihnen existieren zudem verschiedene Isoformen, die sich in ihrer Aminosäuren-zusammensetzung und damit auch in ihren Löslichkeits- und Bindungseigenschaften unterscheiden. (Koch & Claesson-Welsh, 2012)

Es sind 3 VEGF-Rezeptoren (VEGFR-1 bis -3) bekannt, bei denen es sich um Tyrosinkinase handelt, die durch Bindung der verschiedenen VEGF-Isoformen an die entsprechenden Rezeptoren aktiviert werden (Koch & Claesson-Welsh, 2012). Es kommt zu einer Homo- oder Heterodimerisierung und damit zu einer Konformitätsänderung, was zu einer Lageänderung der

intrazellulären ATP-Bindungsstelle und schließlich durch Auto- oder Transphosphorylierung zum Auslösen der intrazellulären Signalkaskade führt (Koch & Claesson-Welsh, 2012).

VEGFR-3 wird auf Lymphgefäßen exprimiert und sorgt durch die Bindung von VEGF C und D für die Regulation der Lymphangiogenese (Koch & Claesson-Welsh, 2012). VEGFR-1 ist auf vielen unterschiedlichen Zellen exprimiert und zirkuliert auch in löslicher Form (Koch & Claesson-Welsh, 2012). An ihn binden VEGF A, B und PlGF, führen aber nur zu einer schwachen Kinaseaktivität (Koch & Claesson-Welsh, 2012). Er ist insgesamt wichtig für die Regulation der Vaskulo- und Angiogenese, insbesondere zur Inhibition der VEGFR-2-Aktivität, aber auch für inflammatorische Vorgänge, da er auch auf Monozyten und Makrophagen in hoher Zahl vorkommt (Koch & Claesson-Welsh, 2012). Seine genaue Wirkung ist bisher nicht umfassend geklärt und scheint, wie auch die der anderen VEGF-Rezeptoren, sowohl Zell-, als auch Ligandenabhängig zu sein, sowie davon, ob und welche Korezeptoren, wie z.B. Neuropilin 1 und 2, an der Bindung beteiligt sind (Koch & Claesson-Welsh, 2012). So kommt es z.B. nach Bindung von VEGF B an VEGFR-1 auf Endothelzellen der Koronarien zu einer Revaskularisation ischämischer Areale und VEGF A hemmt nach Bindung an VEGFR-1 die proangiogene Wirkung von VEGFR-2, während sie durch die Bindung von PlGF und anderen VEGF-Splice-Varianten an denselben Rezeptor gefördert wird (Koch & Claesson-Welsh, 2012).

Auf den Endothelzellen ist ganz überwiegend VEGFR-2 exprimiert, der damit den wichtigsten Mediator bei der physiologischen und pathologischen Angiogenese darstellt (Koch & Claesson-Welsh, 2012). An ihn binden VEGF C, D und A, wobei letzterer das stärkste Signal initiiert, allerdings auch eine 10-fach geringere Affinität zu diesem Rezeptor aufweist als zu VEGFR-1 (Koch & Claesson-Welsh, 2012). VEGFR-2 kommt in vielen Geweben auch in löslicher Form vor und hemmt dort z.B. durch Bindung von VEGF C die Lymphangiogenese, während VEGF C diese über VEGFR-3 stimuliert. (Koch & Claesson-Welsh, 2012). Gewebehypoxie stimuliert sowohl die Expression von VEGFR-2, als auch die Produktion und Ausschüttung proangiogener Faktoren, wie z.B. VEGF A, das durch Aktivierung von VEGFR-2 die Gefäßpermeabilität erhöht und die Proliferation und Migration von Endothelzellen, sowie die Transkription weiterer angiogener und antiapoptotischer Proteine stimuliert und. (Koch & Claesson-Welsh, 2012).

Varey et al. konnten in vitro und im Tierversuch zeigen, dass sowohl in normaler Kolon-schleimhaut, als auch in kolorektalen Tumorgeweben pro- und antiangiogene VEGF-Isoformen vorkommen und die VEGF-mRNA-Konzentrationen im malignen Gewebe deutlich erhöht sind. Während in der normalen Schleimhaut die antiangiogenen Isoformen mit ca. 90% Anteil überwogen, stiegen im Tumorgewebe die proangiogenen splice-Varianten mit einem Anteil von

ca. 65% deutlich an (Varey et al., 2008). Vor allem unter Hypoxie kam es zu einem deutlichen Anstieg der proangiogenen VEGF-Varianten, während die antiangiogenen in gleicher Konzentration messbar waren (Varey et al., 2008). In der Untersuchung konnte weiterhin gesehen werden, dass Bevacizumab sowohl die pro-, als auch die antiangiogenen splice-Varianten bindet (Varey et al., 2008). VEGF-splice-Varianten werden unterschieden, indem der Buchstabe a oder b an die genauere Bezeichnung angehängt wird, wobei diejenigen splice-Varianten mit dem Buchstaben a proangiogen und diejenigen mit dem Buchstaben b antiangiogen wirken (Zhao et al., 2015). Zudem werden die splice-Varianten durch die Anzahl der Aminosäuren benannt, so dass z.B. eine proangiogene splice-Variante des VEGF-A mit VEGF-A-165a bezeichnet wird (Zhao et al., 2015).

Bevacizumab ist ein rekombinanter humanisierter monoklonaler Antikörper mit einer terminalen Halbwertszeit von ca. 20 Tagen (Hofheinz et al., 2013). Er bindet mit einer hohen Affinität an fast alle zirkulierenden VEGF-A-Isoformen und verhindert somit eine Aktivierung der VEGF-Rezeptoren durch VEGF-A (Kieran et al., 2012). Dies führt letztendlich zu einer Unterdrückung der Tumor-neoangiogenese, aber auch zu einem Untergang bereits bestehender, vor allem unreifer Tumorgefäße, die durch den fehlenden VEGF-Reiz durch Apoptose absterben (Goel et al., 2011). Dadurch wird die Tumordurchblutung zielgerichteter, der interstitielle Druck fällt ab und die Sauerstoffversorgung wird besser, was letztendlich dazu führt, dass gleichzeitig verabreichte Chemotherapeutika besser an ihren Angriffsort gelangen können (Goel et al., 2011). Der Rückgang an hypoxischen Arealen bewirkt wahrscheinlich auch eine verminderte Resistenzentwicklung gegenüber Zytostatika und es wird einer der Reize zur VEGF-Bildung genommen (Goel et al., 2011).

In verschiedenen Studien konnte die Wirksamkeit von Bevacizumab bei unterschiedlichen Tumorentitäten sowohl in der first-line-, als auch in der second-line-Therapie, letzteres auch nach Bevacizumab Vortherapie gezeigt werden. So ist die Substanz neben der Behandlung metastasierter kolorektaler Karzinome auch zugelassen zur Therapie metastasierter oder fortgeschrittener Mamma-, Ovarial-, Bronchial- und Nierenzellkarzinome, jeweils in der Kombinationstherapie.

In der Monotherapie mit Bevacizumab bei vorbehandelten Patienten, zeigten sich beim Mamma-karzinom Ansprechraten von 6,7% und beim kolorektalen Karzinom von 3,3% (Goel et al., 2011). In der Kombination mit Capecitabin konnte Bevacizumab bei mehr als 400 Patienten das PFS signifikant verbessern, das OS war aber in beiden Armen gleich (Hofheinz et al., 2013) In einer weiteren Studie an fast 300 Patienten mit einem medianen Alter von 76 Jahren konnte die

Kombination aus Capecitabin und Bevacizumab neben dem PFS (9,1 vs. 5,1 Monate) auch das OS (20,7 vs. 16,8 Monate) gegenüber Capecitabin signifikant verbessern (Hofheinz et al., 2013).

Hurwitz et al. behandelten ca. 800 therapienaive Patienten mit einer Chemotherapie mit Irinotecan, 5-Fluorouracil und Folinsäure nach dem IFL-Protokoll, je zur Hälfte mit Bevacizumab oder Placebo. Sowohl PFS (10,6 vs. 6,2 Monate), als auch OS (20,3 vs. 15,6 Monate) waren in der Bevacizumabgruppe verbessert. (Hurwitz et al, 2004) In der BICC-C-Studie konnte durch die Hinzunahme von Bevacizumab zu einer Chemotherapie nach dem FOLFIRI-Protokoll ein PFS von 11,2 und ein OS von 28 Monaten erreicht werden, während die Chemotherapie alleine ein PFS von 7,6 und ein OS von 23,1 Monaten zeigte (Fuchs et al. 2007). Allerdings verglich die Studie diese beiden Therapien nicht randomisiert miteinander, sondern jeweils mit dem IFL-Protokoll, einmal mit und einmal ohne Bevacizumab (Fuchs et al. 2007). Die Kombination von Bevacizumab mit einer Oxaliplatin-basierter Chemotherapie plus infusionalem 5-FU bzw. Capecitabin zeigte in der Erstlinientherapie gegenüber der jeweiligen Chemotherapie alleine ebenfalls eine Verbesserung des PFS (9,4 vs. 8 Monate) und des OS (21,3 vs. 19,9 Monate), jeweils für die Bevacizumabgruppe (Saltz et al, 2008). Die Verbesserung des Gesamtüberlebens zeigte allerdings keine statistische Signifikanz (Saltz et al, 2008). Bei der Behandlung von fast 400 Patienten mit einer Erstlinienchemotherapie (FOLFIRI oder FOLFOX) mit oder ohne Bevacizumab konnte keine statistisch signifikante Verbesserung des PFS (9,6 vs. 8,4 Monate zugunsten der Bevacizumabgruppe) oder des OS (21,3 vs. 20,8 Monate zugunsten der Chemotherapiegruppe) erreicht werden (Passardi et al., 2015). Diese Studie sollte eine absolute Verbesserung des PFS von 3 Monaten zugunsten der Antikörpertherapie aufzeigen (Passardi et al., 2015). Eine gepoolte Analyse aus 25 Studien mit fast 8000 Patienten konnte für die Kombination von Bevacizumab mit Oxaliplatin und infusionalem 5-Fluorouracil oder Capecitabin ein progressionsfreies Überleben von 10,3 Monaten und ein OS von 23,7 Monaten zeigen (Petrelli et al., 2015). Es wurde allerdings in der Analyse kein Vergleich mit den Ergebnissen der Chemotherapie allein hergestellt (Petrelli et al., 2015). Eine Metaanalyse aus 6 randomisierten first-line-Studien mit über 3000 Patienten erbrachte eine signifikante Verbesserung des PFS (9,1 vs. 6,9 Monaten) und des OS (19,8 vs. 17,6 Monate) zugunsten von Bevacizumab (Hofheinz et a., 2013). Auch in der second-line-Therapie konnte die Therapie mit dem FOLFOX-Regime eine Verbesserung durch die Hinzunahme von Bevacizumab erfahren (PFS 7,3 vs. 4,7 Monate; OS 12,9 vs. 10,8 Monate) (Giantonio et al., 2007). In dieser Studie zeigte sich für das Gesamtüberleben eine statistische Signifikanz (Giantonio et al., 2007). Die Fortführung von Bevacizumab mit einer 2nd-line-Kombinationschemotherapie nach Bevacizumab-haltiger 1st-line Chemotherapie, die innerhalb von 3 Monaten einen Progress aufzeigten, konnte ebenfalls eine Verbesserung des PFS (6,4 vs. 4,5 Monate für k-ras-WT und 5,5 vs. 4,1 Monate für k-ras-Mutation) und des OS (15,4 vs. 11,1 Monate für k-ras-WT und 10,4 vs.

10,0 Monate für k-ras-Mutation) gegenüber der alleinigen 2nd-line-Chemotherapie zeigen (Kubicka et al, 2013). Ein ähnlicher Vorteil im progressionsfreien und im Gesamtüberleben zeigte sich in einer anderen Studie auch bei Patienten, die eine Reinduktion mit Bevacizumab im Rahmen einer Zweitlinientherapie nach mehr als 3 Monaten erhielten (Masi et al., 2015). Eine fortgeführte Gabe von Bevacizumab als Erhaltungstherapie nach 4-6 Monaten einer erfolgreichen Erstlinienkombination aus Bevacizumab und Chemotherapie zeigte eine statistisch signifikante Verbesserung des PFS (9,5 vs. 8,5 Monate), aber ebenfalls keine statistische Signifikanz für das Gesamtüberleben (25,4 vs. 23,8 Monate) (Koeberle et al., 2015). Eine Metaanalyse aus sechs Erst- und einer Zweitlinientherapie mit über 3700 Patienten erbrachte einen Vorteil in PFS (HR 0,57) und OS (HR 0,80) für die Hinzunahme von Bevacizumab zu einer Chemotherapie gegenüber der alleinigen Chemotherapie (Hurwitz et al., 2013)

Aflibercept ist ein rekombinantes, aus den Ovarialzellen des chinesischen Hamsters gewonnenes Fusionsprotein aus den extrazellulären Domänen der humanen VEGF-Rezeptoren 1 und 2, sowie dem Fc-Anteils des humanen IgG1 mit einer Größe von 115 kD und einer terminalen Halbwertszeit von 6 Tagen (Schmoll, 2013). Es bindet mit einer höheren Affinität als die nativen Rezeptoren an alle Splice-Varianten von humanem VEGF B und PlGF, sowie mit einer 1000-mal höheren Affinität als Bevacizumab an VEGF A (Schmoll, 2013). In der Zweitlinienbehandlung in der Kombination mit Irinotecan, 5-FU und Folsäure (FOLFIRI), konnte die Hinzunahme von Aflibercept, nach Vorbehandlung mit Oxaliplatin, 5-FU, Folsäure mit und ohne Bevacizumab, gegenüber FOLFIRI alleine, das PFS von 4,7 auf 6,9 Monate und das OS von 12, 1 auf 13,5 Monate verbessern. (van Cutsem et al., 2012)

Regorafenib ist ein oraler Inhibitor verschiedener membrangebundener und intrazellulärer Proteinkinasen der Onkogenese (KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAF-V600E), des Tumor-Microenvironments (PDGFR, FGFR) und der Angiogenese (Yoshino et al., 2015). Durch die Substanz werden die intrazellulären Tyrosinkinasen der VEGF-Rezeptoren 1-3, sowie des Tie-2-Rezeptors inhibiert und so die intrazelluläre Signalkaskade unterbrochen (Yoshino et al., 2015). Eine Wirkung beim kolorektalen Karzinom konnte im Vergleich zu Placebo nachgewiesen werden bei Patienten die vorab Fluoropyrimidine, Irinotecan, Oxaliplatin, eine antiangiogene Therapie und bei kras-WT eine EGFR-Antikörper-Therapie erhalten hatten (Yoshino et al., 2015). Im Median betrug der Überlebensvorteil allerdings nur 1,4 Monate (Yoshino et al., 2015).

Ramucirumab ist ein rekombinanter, aus Mäusezellen gewonnener, humaner, monoklonaler IgG1-Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne des VEGF-Rezeptor-2 (Fachinfo Cyramza®). In der RAISE- Studie an über 1000 Patienten, die eine Tumorprogression unter oder nach einer

Erstlinientherapie mit Bevacizumab, Oxaliplatin und einem Fluoropyrimidin zeigten, konnte die Kombination mit einer Chemotherapie nach dem FOLFIRI-Protokoll gegenüber der Chemotherapie allein das Gesamtüberleben von 11,7 auf 13,3 Monate verbessern (Tabernero et al, 2015).

1.4 Regionale Therapieverfahren an der Leber

1.4.1 Lokal-ablative Therapie

Bei Patienten mit alleiniger oder prädominanter Lebermetastasierung, welche funktionell oder technisch inoperabel sind, besteht die Möglichkeit verschiedener lokaler Behandlungsmöglichkeiten. Hierzu zählen u.a. die Radiofrequenzablation (RFA), sowie die Kryo- und Mikrowellentherapie. Dies sind Verfahren, welche durchaus in kurativer Intention eingesetzt werden können.

Ein retrospektiver Vergleich zwischen RFA und Lebermetastasenresektion bei über 150 Patienten mit alleiniger Lebermetastasierung (weniger als 5 Metastasen, welche kleiner als 3 cm im Durchmesser waren) zeigte allerdings deutliche Vorteile für die operierten Patienten (Lee et al., 2015). Das krankheitsfreie Überleben nach 5 Jahren lag bei 39,7% in der OP-Gruppe und bei 23,9% nach RFA und auch das Gesamtüberleben war nach Operation besser (Lee et al., 2015). In der Subgruppe mit solitärer Metastase oder Metastasen bis zu 2 cm Größe zeigten sich ähnliche Ergebnisse für beide Verfahren, wobei allerdings die Gleichwertigkeit bei geringer Patientenzahl nicht statistisch bewiesen werden konnte (Lee et al., 2015). Auch kumulative Daten aus 2 Phase-II-Studien und verschiedenen, v.a. retrospektiven Fallserien erbrachten einen Vorteil für die Operation mit einer 5-JÜR von 48-71% gegenüber 18-33% für die RFA (Clark & Smith, 2014). Allerdings bleibt zu erwähnen, dass RFA hier in der Regel bei inoperablen Patienten angewandt wurde, was einen Bias zu Gunsten der Operation verursacht haben könnte (Clark & Smith, 2014).

Auch die Kryotherapie zeigte ähnliche Ergebnisse (Xu et al., 2008). Bei der Behandlung von 326 Patienten mit alleiniger, inoperabler kolorektaler Lebermetastasierung zeigte sich unabhängig von Anzahl und Größe der Filiae, ein 5-Jahresüberleben von 23% (Xu et al., 2008). Auch hier konnte ein besseres medianes Überleben von 39 Monaten bei Metastasen kleiner/gleich 3 cm, im Vergleich zu größeren Filiae mit einem medianen Überleben von 21 Monaten gezeigt werden (Xu et al., 2008).

In einer monozentrischen Beobachtung an 33 Patienten mit Lebermetastasen bis zu 5,5 cm Größe, die mit einer Mikrowellenablation und z.T. mit einer begleitenden Leberresektion behandelt

wurden, war eine 4-Jahresüberlebensrate von 35,2% und ein krankheitsfreies Überleben von 19,3% nach 3,5 Jahren erreicht worden (Eng et al., 2015).

Alle diese Methoden sind bisher nicht in großen, randomisierten Studien evaluiert worden, scheinen aber für selektierte oder inoperable Patienten mit wenigen Metastasen bis zu einer gewissen Größe, je nach Modalität, eine gut verträgliche Alternative zur Operation mit ähnlich guten Ergebnissen zu sein.

1.4.2 Intraarterielle Therapieverfahren

Die Leberdurchblutung erfolgt nur zu ca. 20% aus der Leberarterie und zu ca. 80% aus der Pfortader, während die Blutversorgung von Lebermetastasen zu 80-100% aus den Leberarterien erfolgt (Breedis & Young, 1954, Schmidt et al., 2005). Diese Unterschiede in der Blutversorgung machen es möglich, Metastasen über einen intraarteriellen Zugang zu behandeln, ohne die Leberzellen in gleicher Weise zu schädigen, indem die tumorversorgenden Arterien möglichst superselektiv aufgesucht werden, um die Chemotherapie oder die Kombination aus Zytostatika und Embolisat zu verabreichen (Fiorentini et al., 2014). Die Chemotherapie kann im Tumorgewebe länger und in höheren Konzentrationen wirken ohne stärkere systemische Nebenwirkungen zu verursachen, was zum einen dadurch erreicht wird, dass ein großer Teil der applizierten Zytostatika in der Leber metabolisiert und damit durch den first-pass Effekt inaktiviert werden, zum anderen kommt es durch die zusätzliche Embolisation der Arterien zu einer Flussverlangsamung im Gewebe mit einer verminderten Auswaschung und damit zu einer verlängerten Einwirkzeit (Fiorentini et al., 2014).

Die selektive intraarterielle Radiotherapie (SIRT), die transarterielle Chemoperfusion (TACP) und die transarterielle Chemoembolisation (TACE) sind Verfahren zur intraarteriellen Therapie von intrahepatischen Tumoren. Voraussetzung für diese Therapie bei kolorektalen Metastasen ist eine alleinige oder prädominante Metastasierung der Leber. Bei diesen Verfahren werden die jeweiligen Substanzen über einen Katheter, der in der Regel über die Arteria femoralis in die rechte oder linke Leberarterie vorgeschoben wird, möglichst superselektiv in die tumorversorgenden Arterien verabreicht.

1.4.2.1 Transarterielle Chemoperfusion

Bei der transarteriellen Chemoperfusion (TACP) oder hepatic artery infusion (HAI) wird die Chemotherapie über einen perkutanen, transfemorale oder einen implantierten Katheter in die Leberarterie, meist als Dauerinfusion über mehrere Stunden bis Tage, appliziert, wodurch Ansprechraten in der Leber zwischen 52% und 75% bei vorbehandelten Patienten erreicht werden konnten (Clark & Smith 2014). In der Kombination mit systemischer Chemotherapie sogar bis zu 90%, wobei hier noch eine sekundäre Resektabilitätsrate zwischen 24% und 47% erzielt werden konnte, bei unvorbehandelten Patienten bis zu 57% (Clark & Smith 2014). In der adjuvanten Therapie nach Leberresektion konnte in Kombination mit systemischer Chemotherapie das rezidivfreie Überleben (Rezidivfreiheit in der Leber) gegenüber der alleinigen systemischen Chemotherapie gesteigert werden, allerdings hatte dies keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben. (Clark & Smith 2014)

1.4.2.2 Selektive intraarterielle Radiotherapie

Die selektive intraarterielle Radiotherapie (SIRT) wird durchgeführt mit Mikrosphären mit einem Durchmesser zwischen 20 und 60 μm , welche mit dem Betastrahler Yttrium-90 beladen werden und über einen intraarteriellen Katheter in die Leber appliziert werden (Raval et al., 2014). Hier kommt es zu einer Anreicherung der Partikel in die kleinsten Arterien v.a. des Tumors und zu einer lokalen Betastrahlung mit einer Reichweite von max. 11 mm, in Geweben durchschnittlich 2,5 mm (Raval et al., 2014). Yttrium-90 hat eine Halbwertszeit von 64,1 Stunden und innerhalb von 11 Tagen sind 94% abgebaut (Raval et al., 2014).

Mehrere kleinere Studien, die SIRT mit systemischer Chemotherapie gegen eine alleinige systemische Chemotherapie bei prädominant hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinomen in der Erstlinientherapie verglichen, zeigten eine höhere Responderate und eine verlängerte Zeit bis zur Progression für die Therapie mit SIRT (Raval et al., 2014). In einigen konnte auch ein verlängertes Gesamtüberleben gezeigt werden, was allerdings wegen der geringen Patientenzahlen nicht statistisch signifikant war (Raval et al., 2014). Die SIRFLOX-Studie konnte als erste Phase-III-Studie keine Verbesserung des Überlebens durch Hinzunahme einer SIRT zu einer systemischen Erstlinientherapie mit FOLFOX zeigen (van Hazel et al., 2016). Die Ansprechraten in der Leber und die Zeit bis zur Progression in der Leber waren im SIRT-Arm aber signifikant verbessert (van Hazel et al., 2016). In der Zweit- und Drittlinientherapie konnten bei kleinen Patientenkollektiven in der Kombination mit Chemotherapie partielle Remissionen zwischen 33% und 48% erreicht werden, aber es fehlten Vergleichsarme (Raval et al., 2014). In der

Salvagetherapie nach Versagen der systemischen Chemotherapie konnte die SIRT ein Gesamtüberleben von bis zu 12 Monaten zeigen (Raval et al., 2014).

1.4.2.3 Transarterielle (Chemo)-Embolisation

Zur Embolisation der tumorversorgenden Arterien werden verschiedene Substanzen, wie z.B. Gelatine, Polyvinyl-Alkohol-Partikel oder Mikrosphären genutzt (Fiorentini et al., 2014). Bei der konventionellen Chemoembolisation werden Zytostatika, wie z.B. Doxorubicin, Mitomycin, Cisplatin oder 5-FU, i.d.R. mit Lipiodol®, ein öliges Röntgenkontrastmittel, das auch zu einer Reduktion des Blutflusses führt, zu einer Emulsion vermischt und über einen arteriellen Katheter in die Leber appliziert (Fiorentini et al., 2014). Anschließend werden die Gefäße mit oben genannten Embolisaten verschlossen, was zu einer Flussverlangsamung oder zu einem Stopp des arteriellen Blutflusses im Tumorgebiet führt, wodurch die applizierte Chemotherapie eine verlängerte Einwirkzeit auf die Tumorzellen hat (Fiorentini et al., 2014).

Die transarterielle Embolisation (TAE) und die transarterielle Chemoembolisation (TACE) gehören beim hepatozellulärem Karzinom seit langem zur Standardtherapie, sofern eine Resektion oder andere lokal-ablative Verfahren nicht durchführbar sind und zeigten dort eine Verbesserung der 2-Jahresüberlebensraten gegenüber best-supportive-care (Lammer et al., 2010; Forner et al., 2012).

Bereits in den 1990er Jahren wurden TAE und TACE auch beim hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinom angewandt. Es konnte an wenigen Patienten gezeigt werden, dass nach Versagen der systemischen Standardtherapie, wiederholte TACE sowohl allein als auch in Kombination mit systemischer Therapie, ein medianes Gesamtüberleben von 8-14 Monaten mit relativ geringer Toxizität erreichen kann (Fiorentini et al., 2014).

Seitdem wurden mehrere Fallserien veröffentlicht, die bei dominant hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinomen gute Ergebnisse der TACE mit verschiedenen Zytostatika und auch verschiedenen Embolisationssubstanzen nach Versagen der systemischen Chemotherapie zeigen konnten.

Albert et al. haben zwischen 1992 und 2008 über 121 Patienten nach Versagen der systemischen Chemotherapien mit einer Mitomycin-Doxorubicin-Cisplatin-Öl-Emulsion und anschließender Embolisation mit abbaubaren Polyvinylalkoholpartikeln behandelt. Bei 43% der Patienten konnte mindestens eine stabile Erkrankungssituation erreicht werden und das Überleben 1 Jahr nach Beginn der Chemoembolisation war 36%, nach 2 Jahren noch 13% (Albert et al., 2011). Gruber-

Rouh et al. behandelten zwischen 1999 und 2011 über 560 Patienten mit Mitomycin, Mitomycin und Gemcitabin, Mitomycin und Irinotecan oder Mitomycin, Irinotecan und Cisplatin, jeweils appliziert als Lipiodolgemisch und anschließender Embolisation mit Mikrosphären aus Stärke. Diese Patienten zeigten eine alleinige hepatische, nicht-operable Filialisierung oder hatten Kontraindikationen gegen eine OP, oder es kam unter systemischer Chemotherapie zu einem Progress bzw. nicht-tolerablen Nebenwirkungen (Gruber-Rouh et al., 2014). Das mediane Überleben nach erster TACE lag bei 14,3 Monaten, die 1- und 2-Jahresüberlebensraten bei 62% bzw. 28% ohne statistisch signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen (Gruber-Rouh et al., 2014). 84 Patienten wurden neoadjuvant behandelt, wovon 74 eine partielle Remission und 10 eine stabile Erkrankung unter der Regionaltherapie hatten (Gruber-Rouh et al., 2014). 31 dieser Patienten konnten noch in kurativer Intention reseziert und 53 mit perkutaner Ablation behandelt werden (Gruber-Rouh et al., 2014).

Seit einigen Jahren werden Mikrosphären aus Hydrogel auf Polyvinylalkohol-Basis verwendet, sog. Drug-Eluting Beads (DEB), die hydrophil, biokompatibel, komprimierbar und biologisch nicht abbaubar sind (Fiorentini et al., 2014). Sie sind in verschiedenen Größen zwischen 70 und 900 µm erhältlich und können mit Doxorubicin und Irinotecan beladen werden, die sie langsam und kontinuierlich an die Umgebung abgeben (Fiorentini et al., 2014). Diese Mikrosphären verschließen die kleinen Gefäße permanent, je nach Wahl der Sphärengröße, und geben dann das entsprechende Zytostatikum langsam an die Umgebung ab (Fiorentini et al., 2014).

Aliberti et al. behandelten in einer einarmigen Phase-II-Studie 82 Patienten mit Irinotecan-beladenen Drug-Eluting Beads (DEBIRI) bei hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom nach Chemotherapieversagen mit einem hepatischen Tumorbefall zwischen 25% und 50%. Einen Monat nach Therapie konnte bei allen Patienten eine signifikante Reduktion der Kontrastmittelanreicherung der Lebermetastasen in der Computertomographie als Ausdruck einer Nekrosebildung gesehen werden (Aliberti et al., 2011). Nach 3 Monaten zeigte sich bei 78% ein Tumoransprechen und die Zeit bis zur Progression betrug im Median 8 Monate, das mediane Gesamtüberleben 25 Monate (Aliberti et al., 2011). Huppert et al. behandelten 29 Patienten mit prädominanter hepatischer Metastasierung und einer Tumorlast in der Leber von bis zu 75% mit Irinotecan-beladenen SAP-Mikrosphären (Hepa-Spheres®). Nach 3 Monaten lag bei 25 Patienten mindestens eine stabile Erkrankung vor, nach 6 Monaten war die Erkrankung noch bei 12 Patienten stabil und nach 12 Monaten noch bei einem (Huppert et al., 2014). Die mediane Zeit bis zur Progression betrug 5 und das mediane Überleben 8 Monate (Huppert et al., 2014). In der Subgruppenanalyse zeigte sich für Patienten mit einem Tumolvolumen <25% eine signifikant längere mediane Überlebensdauer von 21 Monaten gegenüber 5 Monaten für diejenigen mit

einem Tumolvolumen >50% (Huppert et al., 2014). Die mediane Zeit bis zur Progression betrug für diese Gruppen 10 vs. 3 Monate (Huppert et al., 2014).

Eine prospektive, multizentrische Phase-II-Studie verglich eine intraarterielle Therapie mit DEBIRI mit einer 4-monatigen systemischen Chemotherapie mit Irinotecan, 5-FU und Folinsäure (FOLFIRI) bei 74 Patienten mit alleiniger, nicht-resektabler hepatischer Metastasierung und weniger als 50% Tumorlast in der Leber (30% <50% Tumorlast, 70% <25% Tumorlast), die bereits 2-3 verschiedene systemische Chemotherapielinien erhalten hatten und deren letzte Chemotherapie seit mindestens 3 Monaten beendet war (Fiorentini et al., 2012). Das mediane Überleben nach DEBIRI lag bei 22 Monaten, mit FOLFIRI hingegen bei 15 Monaten (Fiorentini et al., 2012). Nach 24, 30 und 50 Monaten war die Überlebensrate für die Patienten nach DEBIRI besser (56%, 34% und 15%) als nach FOLFIRI (32%, 9% und 0%) und das mediane PFS lag bei 7 Monaten für DEBIRI und bei 4 Monaten für FOLFIRI (Fiorentini et al., 2012). Ein Ansprechen (komplette oder partielle Remission) zeigte sich unter Therapie mit DEBIRI in 68,6% und unter FOLFIRI in 20% der Fälle, eine stabile Erkrankung in 11,4% (DEBIRI) und 34,3% (FOLFIRI) (Fiorentini et al., 2012).

Randomisierte Phase-III-Studien zu dieser Therapieoption fehlen aber.

In einer einarmigen prospektiven Studie von Bower et al. wurde an 55 Patienten mit primär nicht-resektablen Lebermetastasen eine transarterielle Chemoembolisation mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads durchgeführt, wovon ein Teil auch extrahepatische Filiae aufwies und 30% eine simultane systemische Chemotherapie erhielten. 20% der Patienten konnten einer sekundären kurativ intentionierten Resektion oder Ablation der Filiae zugeführt werden (Bower et al., 2010).

1.5 Radiologische Auswertungsmethoden

Im Jahr 2000 wurden Leitlinien für die Evaluation von Tumoransprechen unter einer zytotoxischen Therapie von der Response Evaluation Criteria In Solid Tumors group (RECIST) formuliert, um eine allgemeine Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Nach diesen Kriterien wird mittlerweile weltweit das Tumoransprechen bewertet, v.a. in klinischen Studien. 2008 wurden diese Kriterien nochmals überarbeitet und als RECIST 1.1 veröffentlicht. In diesen Kriterien wird festgelegt, dass Läsionen im größten Durchmesser ausgemessen werden sollen und dass diese mindestens 10 mm groß sein sollen, um als messbare Läsionen zu gelten (Eisenhauer et al., 2009). Lymphknoten sollen in der kurzen Achse gemessen werden und diese soll mindestens 15 mm lang sein (Eisenhauer et al., 2009). Dies gilt für Messungen in der Computertomographie mit einer Schichtdicke von 5 mm

oder weniger (Eisenhauer et al., 2009). Alle anderen Läsionen werden als nicht messbar klassifiziert (Eisenhauer et al., 2009). Mindestens eine messbare Läsion soll vorhanden sein (Eisenhauer et al., 2009). Existieren mehr als eine messbare Läsion, sollen maximal 5 insgesamt und maximal 2 pro Organ beschrieben und als Zielläsion benannt werden (Eisenhauer et al., 2009). Als Zielläsionen sollen solche ausgesucht werden, die den größten Durchmesser besitzen, repräsentativ für das befallene Organ und vor allem reproduzierbar ausmessbar sind (Eisenhauer et al., 2009). Die Summe der Durchmesser aller Zielläsionen ist der Wert, der den nachfolgenden Beurteilungen jeweils zugrunde liegt. Unter diesen Voraussetzungen wird das Tumoransprechen wie folgt definiert:

Komplette Remission (CR): Verschwinden aller Zielläsionen, alle pathologischen Lymphknoten sollen in der kurzen Achse <10 mm messen

Partielle Remission (PR): 30% Verkleinerung in der Summe aller Zielläsionen, verglichen mit dem Ausgangsbefund

Progrediente Erkrankung (PD): 20% Zunahme in der Summe aller Zielläsionen, verglichen mit der kleinsten Summe aller Untersuchungen, mindestens aber eine absolute Größenzunahme von 5 mm oder das Auftreten neuer Läsionen

Stabile Erkrankung (SD): Weder Remission noch progrediente Erkrankung
(Eisenhauer et al., 2009)

Ebenfalls im Jahr 2000 wurden von der European Association for the Study of the Liver (EASL) während einer Expertenkonferenz Leitlinien für das hepatozelluläre Karzinom (HCC) festgelegt. In diesen wurden Kriterien angeführt, die für die Beurteilung des Tumoransprechens beim HCC herangezogen werden sollten. Da beim HCC insbesondere lokoregionäre Therapieverfahren zum Einsatz kommen, bei denen häufig Nekrosezonen zurückbleiben, ohne dass sich der Tumordurchmesser ändert, wurde empfohlen, für das radiologische Ansprechen die kontrastmittelaufnehmenden Anteile der Läsionen als Grundlage zu nehmen und die Nekrosezonen nicht mitzurechnen (Bruix et al, 2001). Aus demselben Grund zeigte sich in Studien zum hepatozellulärem Karzinom (HCC), dass die Auswertung nach den RECIST-Kriterien das Tumoransprechen nicht optimal widerspiegeln, insbesondere nach Chemoembolisation oder zielgerichteten Therapien. Daher wurde 2008 ein Amendment zu den RECIST-Kriterien entwickelt, welche für die Evaluation der Ansprechraten beim HCC gelten sollten und als modifizierte RECIST-Kriterien (mRECIST) im Jahr 2010 veröffentlicht wurden (Lencioni & Llovet, 2010). In diesen werden die Zielläsionen als reproduzierbare, messbare kontrastmittel-aufnehmende

Tumoranteile in der arteriellen Phase der CT oder der MRT ausgewählt (Lencioni & Llovet, 2010). Gemessen wird anschließend der längste Durchmesser der kontrastmittelaufnehmenden Tumoranteile, welcher im Verlauf der Erkrankung nicht immer in derselben Schnittebene liegen muss (Lencioni & Llovet, 2010). Ansonsten entsprechen die Kriterien weitgehend den RECIST-Kriterien, wie oben beschrieben, auch in der Beurteilung des Tumoransprechens (Lencioni & Llovet, 2010).

In einer Studie mit 120 HCC Patienten, die mit Doxorubicin-beladenen Drug-Eluting Beads behandelt wurden, wurden die MRT-Untersuchungen vor und nach dem ersten Zyklus der Therapie nach WHO-, EASL-, RECIST 1.1- und mRECIST-Kriterien ausgewertet (Prajapati et al., 2013). Anschließend wurden die Ansprechraten (CR, PR, SD, PD) mit den Überlebensdaten verglichen (Prajapati et al., 2013). Hier zeigte sich eine gute Korrelation zwischen Tumoransprechen und medianem Überleben bei der Auswertung nach EASL- und mRECIST-Kriterien, während dies bei Auswertung nach WHO und RECIST 1.1 nur für die progrediente Erkrankung gegeben war (Prajapati et al., 2013).

Eine Studie von Huppert et al. an 29 Patienten mit hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom, die nach Versagen der systemischen Therapie eine TACE mit Irinotecan beladenen SAP-Beads erhielten, wurde nach RECIST 1.1- und EASL-Kriterien ausgewertet. Hier konnte nach 3, 6 und 12 Monaten eine stabile Erkrankung in 86%, 48% und 8% bei Auswertung nach RECIST 1.1 gezeigt werden, ohne eine einzige komplette oder partielle Remission (Huppert et al., 2014). Bei Nutzung der EASL-Kriterien war eine komplette oder partielle Remission in 72%, 32% und 0%, sowie eine stabile Erkrankung in 14%, 16% und 8% zu erkennen (Huppert et al., 2014). Eine progrediente Erkrankung konnte nach 3, 6 und 12 Monaten in 14%, 52% und 92% gesehen werden, sowohl bei der Auswertung nach RECIST 1.1, als auch nach EASL (Huppert et al., 2014).

2. Material und Methoden

2.1 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Für die Therapie des metastasierten kolorektalen Karzinoms ist eine Fülle unterschiedlicher Medikamente zugelassen. Diese Medikamente greifen an unterschiedlichen Strukturen außerhalb, an der Oberfläche und im Inneren der Tumorzellen an, um das Tumorwachstum zu verhindern oder auch den Untergang der Tumorzellen herbeizuführen. In Untersuchungen verschiedener Studiengruppen konnten für einige dieser Medikamente Prädiktoren gefunden werden, die ein Ansprechen oder Nicht-Ansprechen voraussagen lassen. Beispiel hierfür ist der sog. ras-Wildtyp als positiver Prädiktor für eine Therapie mit EGF-Rezeptorantagonisten (Gong, 2016). Aufgrund der Zunahme der Therapieoptionen und der Therapiekosten ist die Bedeutung gestiegen, weitere Prädiktoren für das Ansprechen auf bestimmte Medikamente und Therapien zu finden.

Unsere Analyse sollte das Verhalten der VEGF-Serumspiegel nach Chemoembolisation kolorektaler Lebermetastasen mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads prospektiv untersuchen. Hierbei wollten wir vor allem herausfinden, ob der VEGF-Basalwert oder die kurzfristige Veränderung der VEGF-Serumspiegel im Verlauf nach Chemoembolisation als prognostische Faktoren dienen können oder ob sie prädiktiv für das Ansprechen bzw. die Überlebenszeit nach dieser Salvagetherapie sind. Zudem sollte die Überlebenszeit einer auf die Leber fokussierten Therapie mit denen systemischer Salvagetherapien verglichen werden. Der Grund für diese Untersuchungen lag darin, in Zukunft möglichst schon vor Therapiebeginn eine Selektion der Patienten vornehmen zu können, um denen, die von dieser Therapieform nicht profitieren, eine bestmögliche supportive Therapie unter Verzicht zusätzlicher toxischer Medikamente empfehlen zu können.

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Behandelt wurden Patienten mit progredienten, hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinomen, die bereits mit allen zugelassenen Chemotherapien, möglichst inklusive monoklonaler EGFR-Antikörper bei (k-)ras-Wildtyp, behandelt worden waren oder bei denen Kontraindikationen gegen eine Behandlung mit diesen Medikamenten bestanden. Hierzu zählten Oxaliplatin, Irinotecan, Fluoropyrimidine, sowie die EGFR-Antikörper Cetuximab und/oder Panitumumab. Eine Therapie mit dem VEGF-Antikörper Bevacizumab war nicht notwendige

Voraussetzung. Die Haupttumorlast sollte in der Leber liegen und prognosebestimmend sein. Ein Alter von 18 Jahren und ein ECOG-Performance-Status von 0 bis 2 waren erforderlich. Es mussten folgende Laborparameter vorliegen: Serum-Bilirubin ≤ 2 mg/dl, PTZ $\geq 60\%$, PTT bis max. 1,5fach der Norm, Cholinesterase > 3000 U/l, GOT und GPT unterhalb einer 5-fachen Normwerterhöhung, Kreatinin $\leq 1,5$ -fache der Norm bzw. Kreatinin-Clearance > 60 ml/min., Leukozyten $\geq 2000/\mu\text{l}$, Thrombozyten $\geq 80000/\mu\text{l}$; Hb > 9 g/dl. Eine schriftliche Einverständniserklärung musste vorliegen. Die Progression der Lebermetastasen wurde mittels Computertomographie oder MRT nachgewiesen. Hierbei wurde auch die freie Durchgängigkeit der Pfortader beurteilt. Zudem mussten extrahepatische Tumormanifestationen stabil oder nicht prognosebestimmend sein.

Ausschlusskriterien für die Behandlung waren eine eingeschränkte Leberfunktion, (insbesondere ein Bilirubin über 2 mg/dl), eine Haupttumorlast außerhalb der Leber, eine Pfortaderthrombose, eine schwere Einschränkung der Herz- oder Lungenfunktion, eine nicht kontrollierte Infektion, sowie ein bestehender Alkohol- bzw. Drogenmissbrauch und Frauen im gebärfähigen Alter ohne ausreichende Kontrazeption bzw. eine bestehende Schwangerschaft oder Stillzeit.

2.3 Patientencharakteristika

Von Februar 2011 bis April 2013 wurden in der Klinik für internistische Onkologie der Kliniken Essen-Mitte 43 Patienten, die an einem therapierefraktären, hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinom erkrankt waren, mit einer transarteriellen Chemoembolisation mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads (Abk.: DEBIRI) behandelt. Die Patienten wurden auch aus anderen Zentren bzw. von niedergelassenen Onkologen rekrutiert, die diese zur Evaluation regionaler Therapieoptionen der Leber an das Zentrum für Regionaltherapie der KEM überwiesen. Im Rahmen eines wissenschaftlichen Begleitforschungsprogramms wurde das Verhalten der Serum-VEGF-Spiegel im Verlauf der Therapie an bis zu 4 Zeitpunkten gemessen. Weiterhin wurde das radiologische Ansprechen nach RECIST- und mRECIST-Kriterien an 2 vorab festgesetzten Zeitpunkten untersucht und auch die Überlebenszeiten festgehalten bzw. telefonisch bei den weiterbehandelnden Kollegen abgefragt. Anschließend wurden VEGF-Spiegel und -Verläufe, die radiologischen Ansprechraten und die Überlebenszeiten in Bezug gesetzt zu Metastasenzahl und -größe, primärem Nodalstatus, Anzahl der Vortherapien, Bevacizumab-Vortherapien und der extrahepatischen Metastasierung.

Von den 43 Patienten, die hinsichtlich des Verhaltens des Serum-VEGF-Spiegels unter einer Behandlung mittels einer transarteriellen Chemoembolisation mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads untersucht wurden, waren am Ende 37 Patienten, 24 Männer und 13 Frauen,

auswertbar. 6 Patienten waren aus folgenden Gründen nicht auswertbar: 1 Patient war nach erster Therapie fulminant progredient und verstarb kurzfristig, 2 Patienten lehnten eine weitere Therapie und Blutentnahme nach der ersten DEBIRI ab, 1 Patient nahm den Termin zur 2. VEGF-Serumprobe nicht wahr und bei einem Patienten konnte die 2. Serumprobe nicht rechtzeitig eingefroren werden. Bei dem 6. Patienten musste kurzfristig ein operativer Eingriff erfolgen, so dass er auch nicht in die Auswertung mitaufgenommen wurde. Das mediane Alter zum Zeitpunkt der ersten Behandlung betrug 64 Jahre (40 – 83 Jahre). Die Anzahl der Lebermetastasen wurde in 3 Gruppen aufgeteilt: 5 Patienten (13,5%) mit 1-3 Metastasen, 15 (40,5%) mit 4-10 und 17 (46%) mit mehr als 10 Metastasen. Eine zusätzliche extrahepatische Metastasierung konnte bei 23 Patienten (62%) diagnostiziert werden. Der primäre Nodalstatus war bei 24 Patienten (65%) positiv und bei 10 Patienten (27%) negativ. Bei 3 Patienten (8%) war dieser nicht mehr zu eruieren.

Alle Patienten waren mit systemischer Chemotherapie vorbehandelt, wobei alle Fluoropyrimidine und Oxaliplatin in der Vortherapie erhalten hatten, 33 Patienten Irinotecan (89%). Bei 20 Patienten (54%) lag ein kras-Wildtyp vor, von denen 18 (90%) einen oder zwei Antikörper gegen den EGF-Rezeptor erhielten, 2 Patienten erhielten keinen EGFR-Antikörper vor Beginn der Regionaltherapie. Bei 2 Patienten mit k-ras-Mutation wurde in der Initialtherapie vor Erhalt der genetischen Analyse jeweils einmalig Cetuximab verabreicht. Ein Patient erhielt beide EGFR-Antikörper, wobei der k-ras-Status nicht mehr herausgefunden werden konnte.

Den VEGF-Antikörper Bevacizumab erhielten 25 Patienten (68%). Bei 13 dieser Patienten (52%) lag die letzte Gabe höchstens 5 Wochen zurück, bei 12 (48%) mehr als 5 Wochen. Die Kombination Trifluridin/Tipiracil, der VEGF-Rezeptorantagonist Aflibercept, der VEGFR-2-Antikörper Ramucirumab und der Multikinaseinhibitor Regorafenib waren zu den damaligen Zeitpunkten noch nicht für die Behandlung des metastasierten kolorektalen Karzinoms zugelassen. Diese und weitere Patientencharakteristika können der nachfolgenden Tabelle entnommen werden.

Geschlecht	
<i>Männer</i>	24 (65%)
<i>Frauen</i>	13 (35%)
Alter	
<i>Median</i>	64 Jahre
<i>Bereich</i>	40-83
Primärtumor	
<i>Kolon</i>	24 (65%)
<i>Rektum</i>	13 (35%)
Lebermetastasierung	
<i>synchron</i>	25 (68%)
<i>metachron</i>	12 (32%)
Extrahepatische Metastasierung	
<i>keine</i>	14
<i>Lunge</i>	17
<i>Lymphknoten</i>	7
<i>Peritoneum</i>	3
<i>Knochen</i>	2
<i>Pankreas</i>	1
<i>Milz</i>	1
Initialer Nodalstatus	
<i>Positiv</i>	24 (65%)
<i>Negativ</i>	10 (27%)
<i>unbekannt</i>	3 (8%)
Leberresektionen	
<i>Ja</i>	13 (35%)
<i>Nein</i>	24 (65%)
Anzahl Leberfiliae	
<i>1-3</i>	5 (13,5%)
<i>4-10</i>	15 (40,5%)
<i>>10</i>	17 (46%)
Größe Leberfiliae	
<i>< 5 cm</i>	19 (51%)
<i>>= 5 cm</i>	18 (49%)
K-RAS-Status	
<i>Wildtyp</i>	20 (54%)
<i>mutiert</i>	16 (43%)
<i>unbekannt</i>	1 (3%)
Medikamente	
<i>Fluoropyrimidine</i>	37
<i>Oxaliplatin</i>	37
<i>Irinotecan</i>	33
<i>Cetuximab</i>	18
<i>Cetuximab (k-ras-Wildtyp)</i>	18
<i>Panitumumab</i>	9
<i>Panitumumab (k-ras-Wildtyp)</i>	9
<i>Bevacizumab</i>	25
Bevacizumabvorbehandlungen	
<i>Keine</i>	12 (32%)
<i><= 5 Wochen</i>	13 (52%)
<i>> 5 Wochen</i>	12 (48%)

Tab. 1: Patientencharakteristika

Bei 27 Patienten (73%) waren insgesamt 4 Therapien geplant, da die Gefäßversorgung zwei zum Tumor führende Hauptäste umfasste, 9 Patienten (27%) sollten 2 Therapien erhalten, da nur ein tumorversorgender Hauptast vorhanden war, ein Patient benötigte wegen eines zusätzlichen tumorversorgenden Gefäßes bei beidseitigem Leberbefall 6 Behandlungen. 12 Patienten (32,5%) wurden mit M1-Beads der Größe 70-150 µm, 25 (67,5%) mit Beads der Größe 100-300 µm behandelt. 31 Patienten (84%) erhielten die geplante Anzahl an Chemoembolisationen. Von den restlichen 6 Patienten (16%), lehnten 4 im Verlauf eine weitere Chemoembolisation ab, 2 nach der dritten und je einer nach 2 bzw. einer Therapie, jeweils von 4 geplanten. 2 weitere Therapiezyklen wurden aufgrund eines massiven hepatischen und extrahepatischen Progresses nach 4 Wochen abgebrochen. Diese Patienten gingen aber in die Analyse ein, da alle geplanten VEGF-Werte abgenommen werden konnten.

2.4 Therapiedurchführung

Die transarterielle Chemoembolisation wurde mit DC Beads® der Firma Terumo in einer Größe von 70-150 µm oder 100-300 µm durchgeführt, welche pro Vial à 2 ml mit 100 mg Irinotecan gemäß der Anleitung des Herstellers beladen waren. In jeder Behandlung wurden die Beads bis zum angiographisch nachgewiesenen Stopp des Blutflusses im behandelten Tumorareal oder maximal 1 Vial verabreicht.

Die Therapie wurde je befallenen Leberlappen bzw. je tumorversorgendem arteriellen Hauptast 2-mal im Abstand von 4 Wochen durchgeführt. Bei beidseitigem Befall erfolgte sie abwechselnd alle 2 Wochen. 4 Wochen nach der ersten Behandlung wurde eine Computertomographie der Leber und 8 Wochen danach eine Computertomographie des Thorax und des Abdomens durchgeführt. Jeweils vor der ersten Behandlung eines Leberlappens und 7 Tage nach der DEBIRI wurde Blutserum abgenommen, zentrifugiert, das Serum abpipettiert und anschließend bei -80° C eingefroren. Hieraus wurden die VEGF-Spiegel bestimmt.

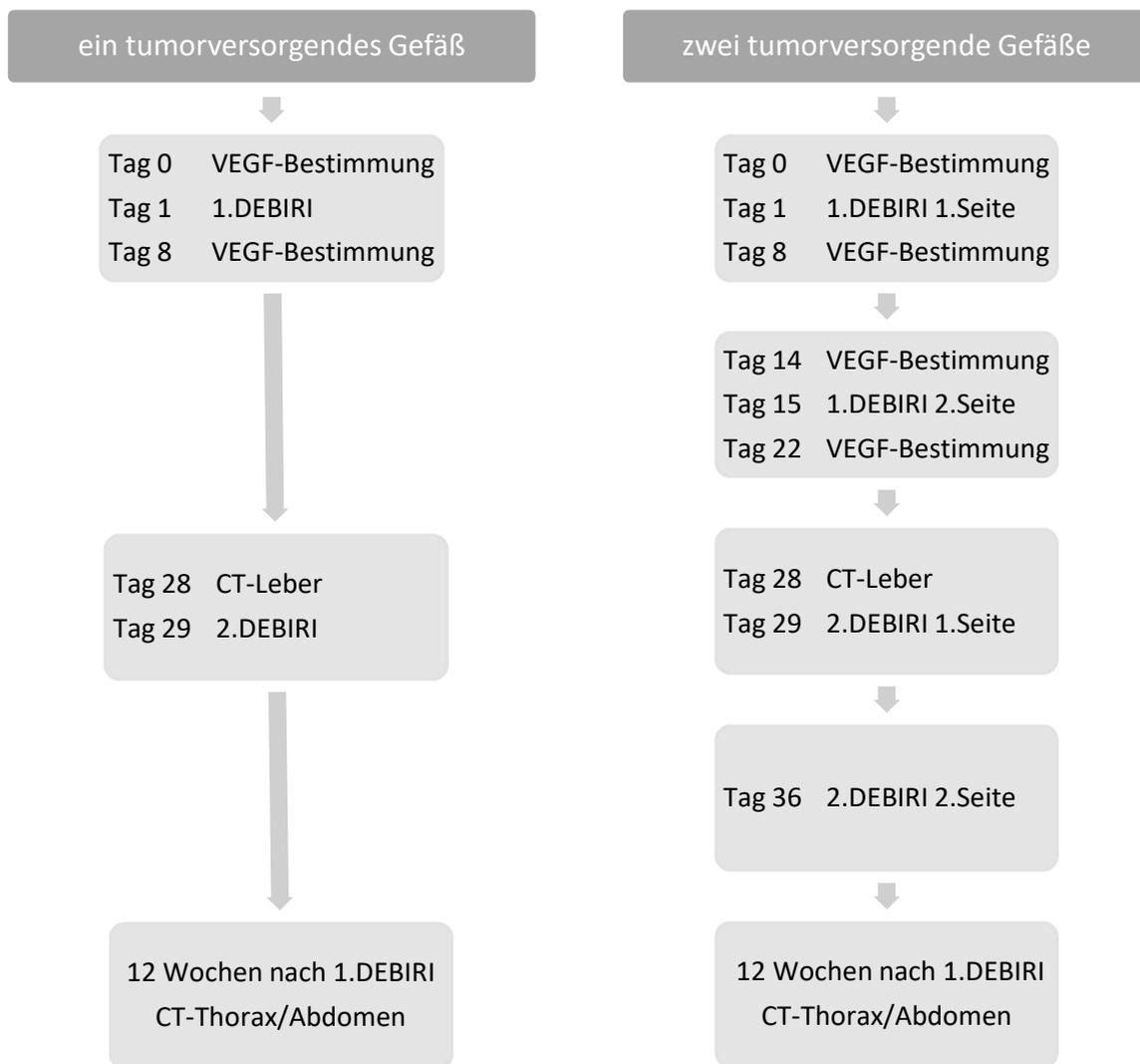


Abb. 1: Ablauf der Therapie und der VEGF-Serumbestimmungen

Nach Evaluation der Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Patienten ausführlich über den Behandlungsablauf und die Maßnahme aufgeklärt und eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt. Am Vortag der Therapie wurde eine körperliche Untersuchung durchgeführt und maßgebliche Laborparameter überprüft. Am Therapietag wurde eine prophylaktische antiemetische Therapie mit Granisetron und Dexamethason verabreicht. Zusätzlich erhielten die Patienten eine prophylaktische Infusion mit Metamizol zur Schmerztherapie und eine single-shot-Antibiotikaphylaxe mit Ceftriaxon. Anschließend wurde über eine arterielle Schleuse in der Arteria femoralis ein Katheter eingebracht und es erfolgte die Darstellung der arteriellen Blutversorgung der Leber und der angrenzenden Oberbauchorgane mittels kontrastmittelgestützter Subtraktionsangiographie. Es wurde ein Katheter über die Aorta abdominalis und den Truncus coeliacus bzw. die Arteria mesenterica superior in die Arteria hepatica eingebracht. Anschließend wurden selektiv oder supraselektiv die tumorversorgenden Gefäße über die Arteria hepatica

dextra oder sinistra aufgesucht und die korrekte Lage des Katheters angiographisch überprüft. Insbesondere wurde auf Kollateralgefäße zum Magen oder zum Duodenum geachtet und der Katheter distal dieser Gefäßabgänge platziert, um eine Fehlembolisation dieser Organe zu vermeiden.

Bei korrekter Katheterlage wurden dann die mit nicht-ionischem Kontrastmittel im Verhältnis 1:4 gemischten Drug-Eluting Beads langsam mit einer Geschwindigkeit von 1 ml/min. appliziert, wobei ein Reflux, insbesondere in extrahepatische Gefäße, vermieden wurde. Die Applikation wurde beendet, wenn eine Stase über eine Dauer von 5 Herzschlägen erreicht war. Wurde keine Stase erreicht, wurde die Intervention nach Verabreichen des kompletten Vials DC Beads® beendet. Anschließend wurde der Katheter und die Schleuse entfernt und nach manueller Blutstillung für 8 Stunden ein Leistendruckverband angelegt. Bettruhe bestand bis zum nächsten Morgen. Mit Gabe der Beads wurde eine Schmerztherapie mit intravenösem Fentanyl über einen Perfusor begonnen und schmerzabhängig angepasst. In der Regel konnte die Schmerztherapie rasch reduziert und bis spätestens zum nächsten Morgen auf eine Bedarfsmedikation mit einem nicht-retardierten Opiat oder mit Metamizol umgestellt werden. Bei Übelkeit erfolgten Kurzinfusionen mit Metoclopramid oder Dimenhydrinat. Neben der Kontrolle der Schmerzintensität mit entsprechender Anpassung der Medikation, wurden die Vitalparameter, sowie die Punktionsstelle und die Fußpulse regelmäßig kontrolliert. Am Tag nach der Therapie war die Entlassung der Patienten vorgesehen, sofern keine stationär behandlungsbedürftigen Nebenwirkungen mehr vorlagen.

2.5 Kontrolluntersuchungen

Jeweils eine Woche nach der ersten Behandlung eines Leberlappens wurden folgende Laborparameter bestimmt: Blutbild, Bilirubin, GOT, GPT, AP, GGT, Kreatinin, Natrium, Kalium, Quick, PTT und VEGF-A (nur im 1. Therapiezyklus). 4 Wochen nach der ersten Behandlung erfolgte eine Computertomographie der Leber und 12 Wochen nach der ersten Behandlung eine Computertomographie des Thorax und des Abdomens. Die Auswertung der CT-Untersuchungen wurde nach RECIST- und retrospektiv auch nach mRECIST-Kriterien durchgeführt, letzteres zur Evaluation eines möglichen Vorteils einer Responsebeurteilung mit Kriterien, die nach regionaler Therapie nur die kontrastmittelaufnehmenden Tumoranteile in der Leber bewerten. Da es sich bei unserer Untersuchung um eine Salvage- und nicht um eine first- oder second-line-Therapie handelte, haben wir die radiologische Auswertung nicht auf die Ansprechtiefe, sondern auf die Krankheitskontrollrate bezogen, weshalb wir die Gruppen bezüglich des Ansprechens wie folgt

zusammengestellt haben: Patienten mit einer stabilen Erkrankung, sowie mit einer partiellen oder kompletten Remission, bezeichneten wir als Responder. Patienten mit einem Progress als Non-Responder. Zur letzteren Gruppe wurden auch diejenigen gezählt, deren Bilder nicht auswertbar waren oder die zum Zeitpunkt der Auswertung bereits verstorben waren.

2.6 VEGF-Untersuchungen

Eine Einverständniserklärung zur Blutentnahme und zur Bestimmung des VEGF-Spiegels mit anschließender Korrelation mit anderen vorliegenden Patientendaten, sowie zur Veröffentlichung in pseudonymisierter Form lag von allen Patienten vor.

Jeweils am Tag vor der ersten Therapie eines Leberlappens und 7 Tage nach der Therapie wurde bei den Patienten Blut mittels einer Serum-Gel-Monovette mit 7,5 ml Füllvolumen abgenommen. Dieses Blut wurde frühestens nach 30 und spätestens nach 120 Minuten weiterverarbeitet. Es erfolgte die Zentrifugation bei 3500 U/min für 4 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurde das Serum abpipettiert und auf 2 Aufbewahrungsröhrchen gleichmäßig verteilt. Diese wurden mit Abnahmedatum und –uhrzeit, sowie einer eindeutig zuzuordnenden Patientennummer beschriftet und umgehend bei -80° C eingefroren. Zum Abschluss des ersten Therapiezyklus lagen somit von jedem Patienten 2 bis 4 Serumproben jeweils mit Reserveprobe vor. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden die Proben mittels Kurierdienst auf Trockeneis ins Labor (MLM Medical Labs Moenchengladbach GmbH) zur Auswertung verschickt. Hierzu wurde ein Enzyme Immuno Assay (EIA) test kit der Firma Bender MedSystems verwendet, um eine quantitative VEGF-A-Analyse durchzuführen. Eine schriftliche Validierung des Tests gemäß internationaler Standards der FDA (U.S. Food & Drug Administration), ICH (International Conference of Harmonisation) und ISO (International Organization of Standardization) lag vor. Die Ergebnisse wurden in pg/ml auf 1 Stelle hinter dem Komma angegeben.

2.7 Datenerhebung

Die Studie wurde im November 2010 als Begleitstudie unter dem Titel „Nicht-randomisierte Phase I/Pilot-Studie zum Verhalten der VEGF-Serum-Spiegel nach Chemoembolisation von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome mit Drug-Eluting Beads“ bei der Ärztekammer Nordrhein unter dem Studiencode „DIZERT001“ eingereicht. Ein positives Ethikvotum wurde am 15.02.2011 erteilt. Der erste Patient wurde noch im Februar 2011 behandelt. Die Patientendaten und Krankengeschichten wurden von uns nach Erhalt der unterschriebenen Einverständniserklärung in

pseudonymisierter Form festgehalten. Die Sterbedaten und eventuell initial nicht festgehaltenen Daten wurden telefonisch bei den Hausärzten oder den behandelnden Onkologen eingeholt. Die radiologische Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Radiologen der Kliniken-Essen-Mitte. Die VEGF-Serumwerte wurden anhand der Patientennummern den anderen Erhebungsdaten zugeordnet.

2.8 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe von SAS® (Version 9.4), Säulendiagramme und Punktwolken, sowie ein Teil der Liniendiagramme, wurden in Excel (Microsoft Office 2013®) erstellt. Die verwendeten Patientendaten wurden pseudonymisiert (ohne Erfassung von Namen und Geburtsdatum) in einer Excel-Tabelle erfasst. Die Patienten waren dabei nur über eine zugewiesene Patientennummer identifizierbar.

Bei den Berechnungen und der Interpretation der Ergebnisse fand eine Beratung durch die CRO ClinAssess GmbH statt.

Die Darstellung der Daten erfolgte zunächst deskriptiv. Für stetige Parameter wurden Median und Extremwerte, für weitere ausgesuchte stetige Parameter zusätzlich arithmetisches Mittel, Standardabweichung und Quartile, berechnet. Diskrete Parameter wurden mit ihren absoluten und relativen Häufigkeiten (Anteilswerte) dargestellt.

Overall survival als time-to-event-Parameter wurde definiert als Zeitraum von dem Tag der ersten Therapie mit DEBIRI bis zum Tod. Nicht-verstorbene Patienten wurden mit dem Datum des letzten Kontakts zensiert. Die Auswertung erfolgte mit der product-limit Methode (Kaplan-Meier Analyse). Die Ergebnisse wurden mit Median und dem dazugehörigen 95%-Konfidenzintervall dargestellt. Zusätzlich erfolgte die Darstellung mit der Kaplan-Meier Grafik.

Explorative Vergleiche zwischen Subgruppen erfolgten 2-seitig zum 5%-Niveau, d.h. dass bei einem p-Wert $< 0,05$ statistische Signifikanz vorlag. Die Stärke der Korrelation zwischen zwei stetigen Parametern wurde mittels Korrelationskoeffizient von Bravais-Pearson bestimmt.

Explorative Vergleiche zwischen Subgruppen wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test für stetige Parameter und mit dem log-rank-test für time-to-Parameter durchgeführt.

3. Ergebnisse

Von Februar 2011 bis April 2013 wurden 37 auswertbare Patienten mit ausschließlich oder dominant hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom mittels Chemoembolisation mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads behandelt. Die vorgegebene Nachbeobachtungszeit betrug 2 Jahre. Die Zeit zwischen Erstdiagnose und der ersten DEBIRI lag im Median bei 86 Wochen (10 – 850 Wochen) und die Zeit zwischen Erstdiagnose der hepatischen Metastasierung und der ersten DEBIRI lag im Median bei 76 Wochen (10 – 322 Wochen).

120 Wochen (2,3 Jahre) nach der jeweils ersten Behandlung waren 36 von 37 Patienten verstorben. Der eine noch lebende Patient konnte nach DEBIRI einer kurativ intendierten Hemihepatektomie unterzogen werden und war zum Zeitpunkt der Auswertung tumorfrei. Dieser Patient geht zensiert mit dem Datum des letzten Kontaktes ca. 4 Jahre (205,7 Wochen) nach erster Behandlung in die Analyse ein.

Die mediane Überlebenszeit ab der ersten Behandlung mit DEBIRI lag bei 31 Wochen (95%-Konfidenzintervall 21 – 49,71 Wochen). 57% bzw. 32% der Patienten lebten länger als 6 bzw. 12 Monate (26 bzw. 52 Wochen) (Abb. 2).

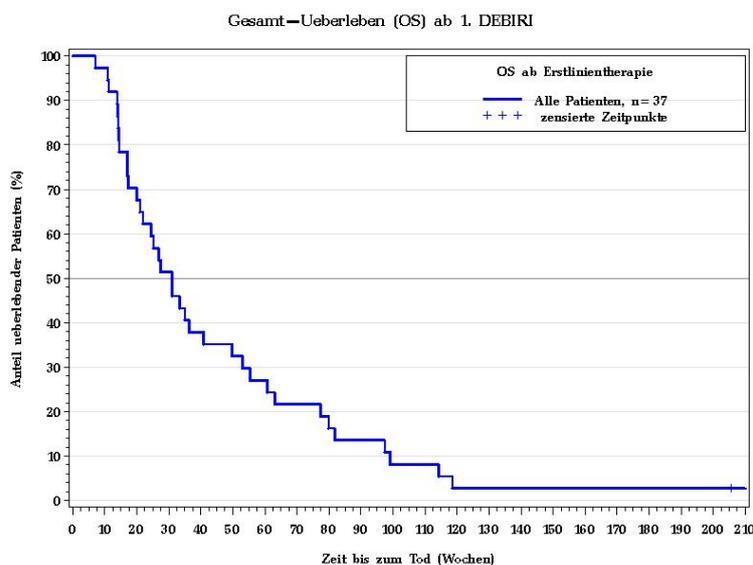


Abb. 2 : Gesamtüberleben aller Patienten ab Beginn DEBIRI

3.1 Serumwerte für VEGF

VEGF-Serumwerte wurden nach dem unter 2.5 beschriebenen Schema abgenommen. Nur jeweils vor und nach der ersten Behandlung eines Leberlappens wurden die VEGF-Werte bestimmt. Die Zeitpunkte wurden wie folgt benannt:

Zeitpunkt 0 (Z0): VEGF-Basalwerte 1 Tag vor der ersten DEBIRI

Zeitpunkt 1 (Z1): VEGF-Werte 7 Tage nach der ersten DEBIRI

Zeitpunkt 2 (Z2): VEGF-Werte 1 Tag vor der zweiten DEBIRI (kontralaterale Seite)

Zeitpunkt 3 (Z3): VEGF-Werte 7 Tage nach der zweiten DEBIRI (kontralaterale Seite)

Somit existieren 2 VEGF-Werte (Z0 und Z1) von Patienten, die nur einen befallenen Leberlappen hatten, und 4 VEGF-Werte (Z0-3) von Patienten mit beidseitigem Befall. Da einige Patienten, wie unter 2.2 beschreiben, eine weitere Therapie während der Behandlung ablehnten, existieren von diesen nicht durchgehend alle Werte. In die Analyse wurden aber nur die Patienten aufgenommen, von denen mindestens die Werte zum Zeitpunkt 0 und 1 vorhanden waren.

In der folgenden Tabelle (Tab. 2) sind für die verschiedenen Zeitpunkte Anzahl der Werte, minimaler und maximaler Wert, Median, Mittelwert und Standardabweichung aufgeführt:

	Zeitpunkt 0	Zeitpunkt 1	Zeitpunkt 2	Zeitpunkt 3
Anzahl der Werte	37	37	26	26
Min. Wert	209,1	240,0	260,8	446,4
Max. Wert	6639,0	6019,8	5977,3	5435,8
Unteres Quartil	507,9	745,7	725,3	758,9
Median	973,6	1231,5	1241,4	1360,4
Oberes Quartil	4105,4	3819,7	3433,8	3182,9
Mittelwert	2245,8	2134,0	2065,0	1954,2
Standardabweichung	2157,2	1767,1	1682,0	1505,6

Tab. 2: VEGF-Werte zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten jeweils in pg/ml

3.1.1 VEGF-Basalwerte

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass ein hoher prätherapeutischer VEGF-Wert ein schlechteres progressionsfreies und auch Gesamtüberleben sowohl beim kolorektalen Karzinom, als auch beim HCC, RCC und NSCLC anzeigen kann (Niizeki et al., 2012, Hedge et al., 2012, Jürgensmeier et al., 2013)

Die VEGF-Konzentrationen im Serum vor Therapie (VEGF-Basalwerte) zeigten bei unseren Patienten eine große Spannweite (209,1 – 6639 pg/ml). Der Median lag bei 973,6 pg/ml, der Mittelwert bei 2245,8 pg/ml.

Patienten mit hohen VEGF-Basalwerten hatten überwiegend als Vortherapie Bevacizumab erhalten. Verglich man die 25 vorbehandelten Patienten mit den 12 Patienten, die nicht mit dem VEGF-Antikörper vortherapiert worden waren, zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0,0379$) in der Höhe des VEGF-Basalwertes (Median 3296,2 vs. 584,5 pg/ml) (Abb. 3).

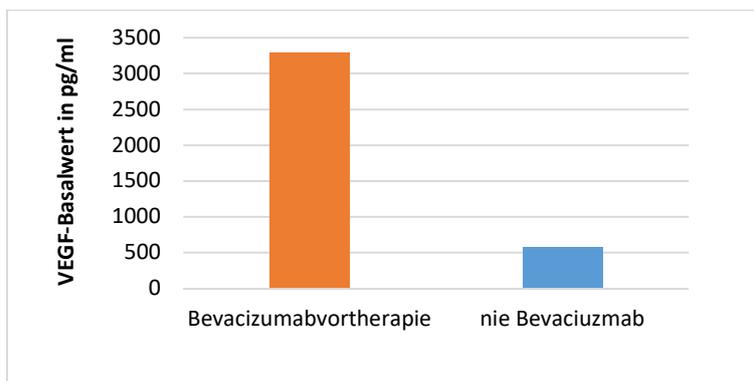


Abb. 3: mediane VEGF-Basalwerte im Serum abhängig von der Vorbehandlung mit oder ohne Bevacizumab

Pharmakokinetische Untersuchungen haben gezeigt, dass Bevacizumab eine ungefähre Halbwertszeit von 21 Tagen hat (Gordon et al., 2001). In der Fachinformation ist die Eliminationshalbwertszeit mit 18 Tagen bei Frauen und 20 Tagen bei Männern angegeben (Fachinformation Avastin®, 2014). Es konnte aber auch 6 Wochen nach Absetzen einer Bevacizumabtherapie noch eine Aktivität des Antikörpers nachgewiesen werden (Starlinger et al., 2012).

Es zeigte sich bei der Auswertung unserer Daten eine Korrelation zwischen der Dauer seit der letzten Vorbehandlung mit Bevacizumab und der Höhe der VEGF-Basalwerte. Je kürzer die Zeit zwischen der letzten Bevacizumabgabe und der Bestimmung der VEGF-Basalwerte, desto höher waren die VEGF-Werte (Abb. 4). Diese Korrelation war statistisch signifikant ($p<0,0001$). Mit Hilfe des zweiseitigen Tests von Kruskal-Wallis wurde untersucht, bei welcher Dauer seit der letzten Bevacizumabgabe sich die beste Diskriminierung (d.h. der kleinste p-Wert) der VEGF-Basalwerte zeigte. Hier kristallisierte sich ein Wert von 5 Wochen zwischen letzter Bevacizumabgabe und dem

Beginn der Therapie mit DEBIRI heraus ($p=0,0003$), welcher auch dem Median entsprach und ebenfalls grafisch bestätigt werden konnte (Abb. 4).

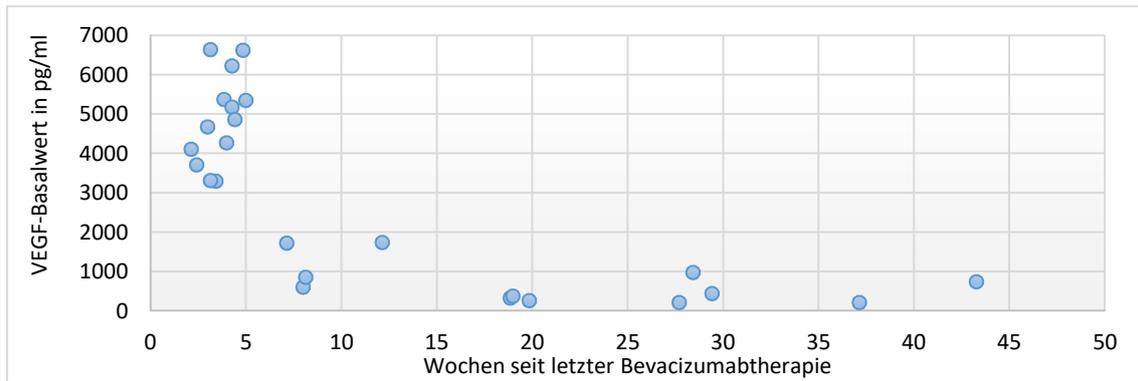


Abb. 4 (oben): VEGF-Basalwerte im Serum abhängig vom Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe

Die Patienten wurden anschließend in 3 Gruppen aufgeteilt:

- Gruppe 1:** 12 Patienten, die nie Bevacizumab erhielten.
- Gruppe 2:** 12 Patienten, die Bevacizumab länger zurückliegend (> 5 Wochen vor 1. DEBIRI) erhalten hatten
- Gruppe 3:** 13 Patienten, die Bevacizumab kürzlich (≤ 5 Wochen vor 1. DEBIRI) erhalten hatten

Bei der Aufteilung in diese 3 Gruppen zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) in der Höhe der VEGF-Basalwerte (Tab. 3 und Abb. 5).

	Median VEGF-Basalwert in pg/ml
Gruppe 1	584,5
Gruppe 2	517,5
Gruppe 3	4826,6

Tab. 3: Medianer VEGF-Basalwert in pg/ml abhängig von Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe vor 1. DEBIRI

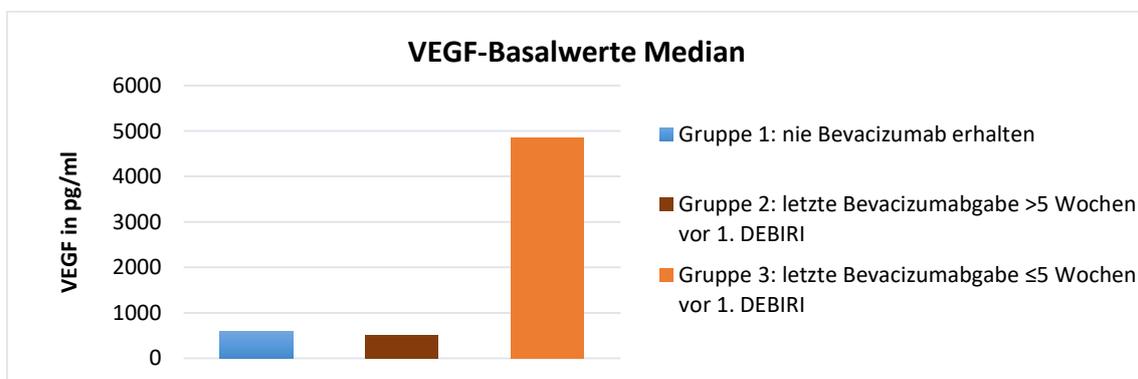


Abb. 5 (oben): VEGF-Basalwerte im Serum abhängig von Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe vor 1. DEBIRI

Bezogen auf die Patienten, die Bevacizumab in der Vortherapie erhielten (Gruppen 2 und 3), war zu erkennen, dass die Basalwerte in Gruppe 3 (Median 4862,6 pg/ml) deutlich höher lagen als in Gruppe 2 (Median 517,5 pg/ml). Auch dieser Unterschied zeigte statistische Signifikanz ($p < 0,0001$).

Teilte man die Patienten gemäß ihres VEGF-Basalwertes in die beiden Gruppen kleiner oder größer/gleich des Medianwertes von 973,6 pg/ml ein, ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben ($p = 0,0288$) (Abb. 6).

Die 18 Patienten mit einem VEGF-Basalwert kleiner des Medianwertes hatten ein medianes Gesamtüberleben von nahezu 1 Jahr (51,36 Wochen, 95%-Konfidenzintervall 21,00 – 79,86 Wochen). In dieser Gruppe befand sich auch der einzig zum Auswertungszeitpunkt noch lebende Patient.

Die 19 Patienten mit einem VEGF-Basalwert größer/gleich des Medianwertes hatten ein medianes Gesamtüberleben von 26,71 Wochen (95%-Konfidenzintervall 17,00 – 33,29 Wochen).

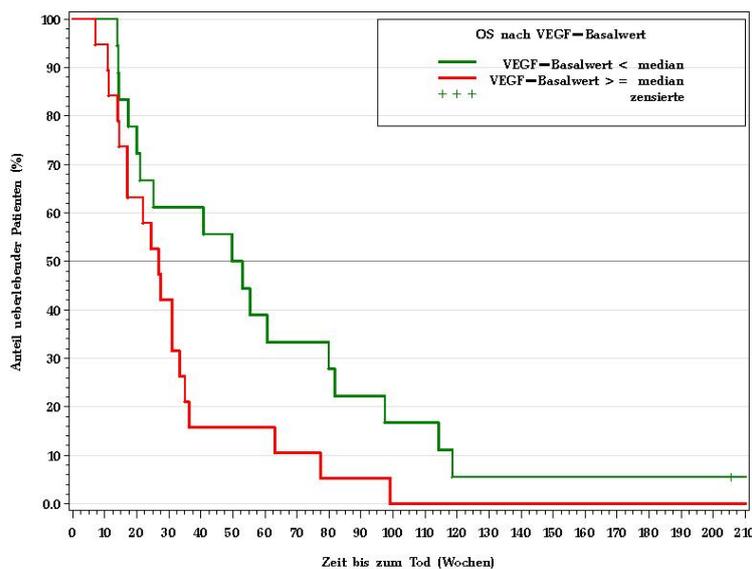


Abb. 6: Gesamtüberleben abhängig von VEGF-Basalwerten < (grün) oder \geq (rot) des Medians

Betrachtet man diese Patientengruppen daraufhin, ob sie Bevacizumab erhalten hatten und wie lange die letzte Gabe her war, so zeigte sich, dass 13 von 19 Patienten, deren VEGF-Basalwert oberhalb oder gleich des Medianwertes lag, innerhalb der letzten 5 Wochen noch Bevacizumab erhalten hatten, während alle 18 Patienten mit Werten unterhalb des Medians entweder nie Bevacizumab erhielten oder deren Therapie mehr als 5 Wochen vor 1. DEBIRI zurücklag (Abb. 7).

Andersherum hatten alle 13 Patienten, die innerhalb der letzten 5 Wochen Bevacizumab erhielten, einen VEGF-Basalwert oberhalb/gleich des Medians. Von den jeweils 12 Patienten der

anderen beiden Gruppen (nie Bevacizumab und letzte Bevacizumabgabe vor > 5 Wochen), hatten nur jeweils 3 Patienten einen VEGF-Basalwert oberhalb/gleich des Medians, während jeweils 9 Patienten unterhalb des Medianwertes lagen (Abb. 7).

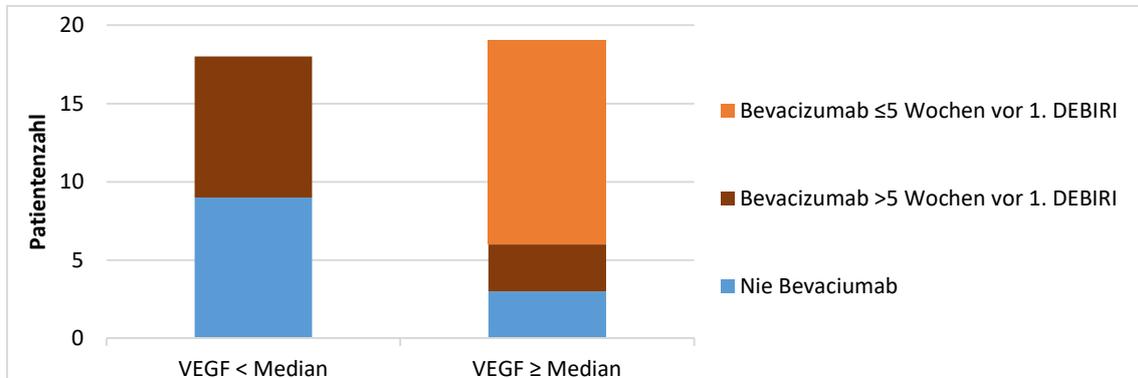


Abb. 7 (oben): VEGF-Basalwerte \geq oder $<$ des Medians abhängig von Bevacizumabvortherapie und Intervall seit der letzten Gabe

Zusammenfassend zeigte sich in unserer Studie, dass Patienten mit einem VEGF-Basalwert unterhalb des Medianwertes, ein besseres Gesamtüberleben nach DEBIRI (51,36 vs. 26,71 Wochen) aufwiesen. Diese Patienten hatten zudem nie eine Therapie mit dem VEGF-Antikörper Bevacizumab erhalten oder die antiangiogene Therapie lag mehr als 5 Wochen zurück.

Es konnte keine Korrelation der VEGF-Basalwerte mit einer extrahepatischen Metastasierung ($p=0,1781$), dem primären Nodalstatus ($p=0,0821$), einer vorherigen Leberresektion ($p=0,8987$), der Größe ($>/\leq 5$ cm, $p=0,4120$) oder der Anzahl der Lebermetastasen (<3 , $3-10$, >10 , $p=0,8014$) hergestellt werden.

3.1.2 VEGF-Verlauf

Aus Untersuchungen zur TAE und TACE beim hepatozellulärem Karzinom (Suzuki et al., 1999; Shim et al., 2008; Ranieri et al., 2015), bei denen es nach Embolisation in den ersten Tagen zu einem VEGF-Anstieg kam, war zu erwarten, dass auch bei der Behandlung kolorektaler Lebermetastasen ein VEGF-Anstieg innerhalb der ersten Woche nach Therapie zu messen sein müsste. Hierbei wollten wir prüfen, ob aus der Höhe des Anstiegs ein prädiktiver oder prognostischer Faktor abzuleiten wäre, da dies in den oben genannten Studien beim HCC gezeigt werden konnte.

Bei der Betrachtung des Verlaufs der VEGF-Werte von den Basalwerten (Z0) zu den Werten eine Woche nach der ersten DEBIRI (Z1), fiel auf, dass sich 2 Gruppen herausbildeten. Anders als nach den oben genannten Beobachtungen beim HCC erwartet unterschieden sich diese Gruppen allerdings nicht durch die Höhe des Anstiegs, sondern durch gegensätzliche Verläufe. 19 Patienten hatten ansteigende und 18 Patienten abfallende VEGF-Werte. Dabei war der Abfall von hohen VEGF-Werten (Median zum Zeitpunkt 1: – 638,6 pg/ml) deutlicher ausgeprägt als der Anstieg von niedrigen Werten (Median zum Zeitpunkt 1: +274,2 pg/ml). Diese Beobachtung bestätigte sich auch im weiteren Verlauf der Therapie (VEGF-Werte 1 Tag vor (Z2) und 1 Woche nach zweiter DEBIRI (Z3)). Es zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation der Werte untereinander zu den verschiedenen Zeitpunkten (Abb. 8), sowie auch in den absoluten Veränderungen zwischen den Messungen ($<0,0001 < p <0,0285$, Korrelationskoeffizienten $>0,935$ bzw. $<-0,430$).

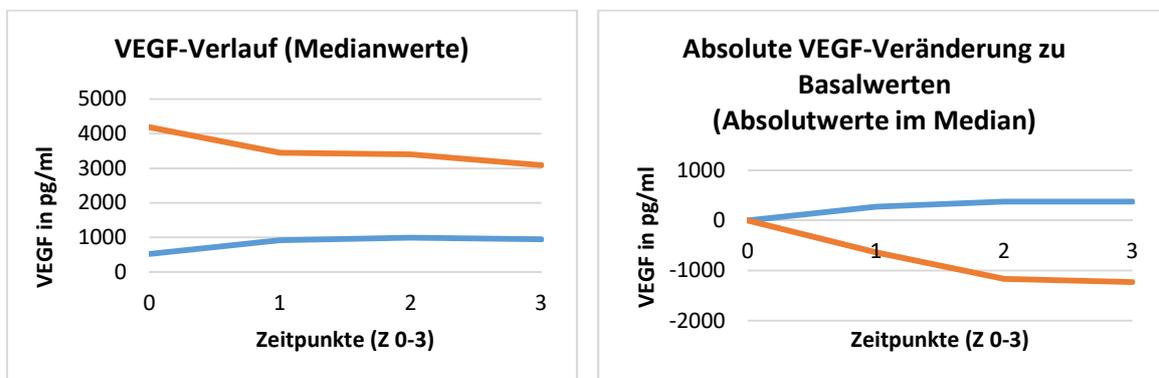


Abb. 8 (oben): Verlauf der medianen VEGF-Werte im Serum in den Gruppen mit steigenden und fallenden Werten, sowie deren absolute Veränderungen zu den Basalwerten (Orange: Patienten mit fallenden VEGF-Werten; Blau: Patienten mit steigenden VEGF-Werten, Zeitpunkt 0= Basalwerte)

Untersuchte man diese beiden Gruppen bezüglich der Höhe des VEGF-Basalwertes (Abb. 9), so zeigte sich, dass ein Abfall der Werte im Verlauf mit der Höhe des Basalwertes korrelierte. Von den 18 Patienten mit fallenden VEGF-Werten zum Zeitpunkt Z1, lag der VEGF-Basalwert bei 15 Patienten oberhalb/gleich dem Medianwert, während er bei 15 der 19 Patienten mit steigenden VEGF-Werten unterhalb des Medianwertes lag. Also hatten Patienten mit hohen VEGF-

Basalwerten im Verlauf abfallende Werte und Patienten mit niedrigen Basalwerten hatten ansteigende VEGF-Werte nach DEBIRI. Dabei war der Abfall von hohen VEGF-Werten deutlicher ausgeprägt als der Anstieg von niedrigen Werten. Teilte man die Patienten gemäß dem Basalwert in 2 Gruppen (oberhalb/gleich und kleiner Median), so ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied in der Veränderung zu Zeitpunkt 1 ($p < 0,0001$).

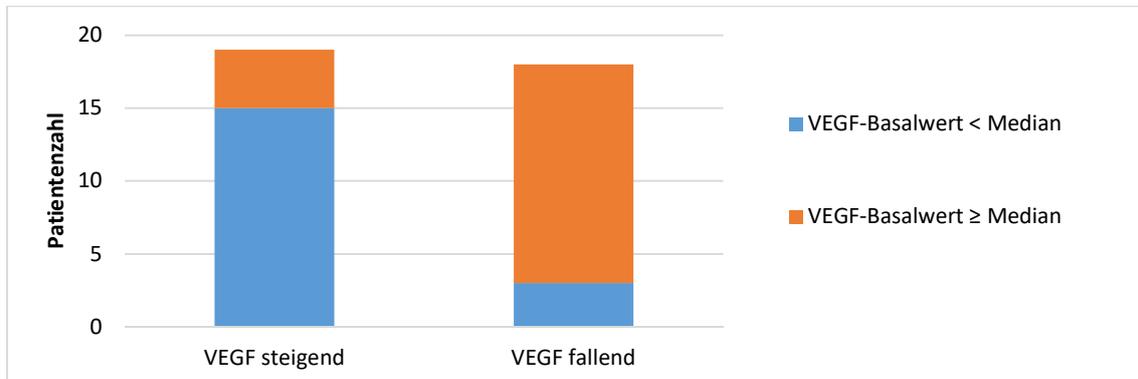


Abb. 9 (oben): Anteil der Patienten mit VEGF-Basalwerten ober- und unterhalb des Medianwertes in den Gruppen mit steigenden und fallenden Werten 1 Woche nach der ersten DEBIRI

Wie bei den VEGF-Basalwerten, zeigte sich auch bei den Veränderungen zum Zeitpunkt Z1 eine Korrelation zu der Bevacizumab-Vortherapie. Die Patienten ohne Bevacizumabvortherapie hatten im Median einen VEGF-Anstieg von 326,1 pg/ml, die Patienten mit Vorbehandlung eine medianen Abfall von 269,3 pg/ml. Teilte man die zweite Gruppe erneut weiter auf (letzte Therapie vor $>$ und ≤ 5) waren unterschiedliche Verläufe zu beobachten. Patienten mit kurz zurückliegender Antikörpertherapie hatten im Median einen Abfall der Werte (-823,9 pg/ml), während die andere Gruppe im Median einen leichten Anstieg zeigte (+47,8 pg/ml) (Abb. 10). Dieser Unterschied der absoluten VEGF-Veränderungen zwischen den 3 Gruppen war statistisch signifikant mit einem $p < 0,0001$.

Diese Veränderungen setzten sich zu den weiteren Messzeitpunkten Z2 (1 Tag vor zweiter DEBIRI) und Z3 (1 Woche nach zweiter DEBIRI) fort (Tab. 4).

	Zeitpunkt Z2	Zeitpunkt Z3
Letzte Bevacizumabgabe ≤ 5 Wochen ja/nein	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$
Letzte Bevacizumabgabe $\leq / > 5$ Wochen, nie Bevacizumab	$p = 0,0001$	$p < 0,0001$

Tab. 4 : statistische Signifikanz der absoluten VEGF-Veränderungen zu den Zeitpunkten Z2 und Z3

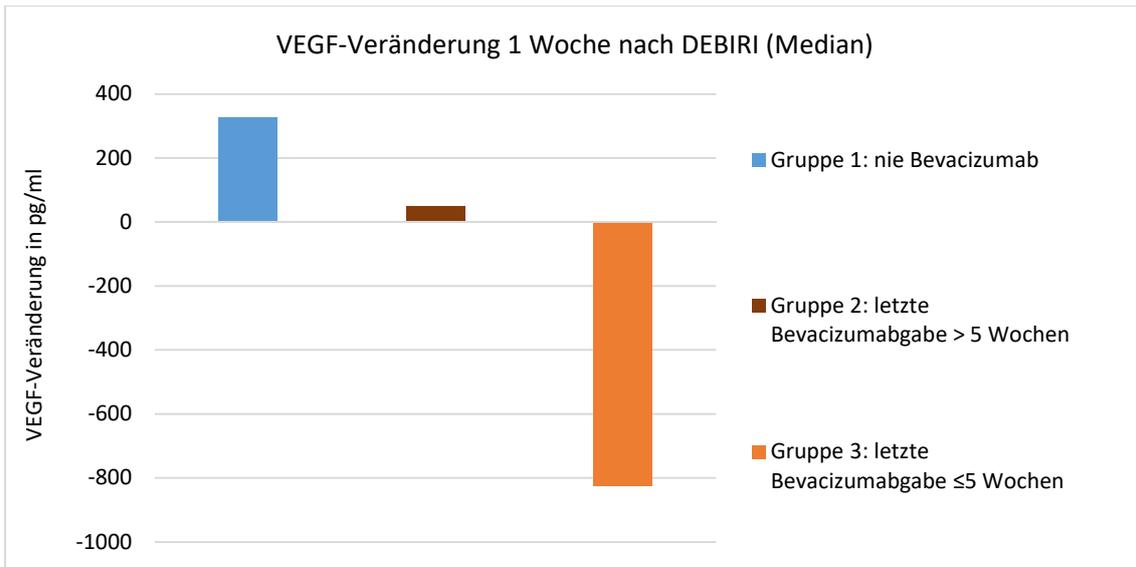


Abb. 10 (oben): VEGF-Verlauf von den Basalwerten zu den Werten eine Woche nach erster DEBIRI bezogen auf die Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Gabe

Von den 12 Patienten, die nie Bevacizumab erhalten hatten, zeigten 11 steigende VEGF-Werte und von den 13 Patienten, die innerhalb der letzten 5 Wochen noch Bevacizumab erhielten, wiesen 12 fallende Werte auf. Die Gruppe der Patienten, deren Bevacizumabtherapie mehr als 5 Wochen her war, zeigte einen heterogenen VEGF-Verlauf. 7 von 12 Patienten hatten steigende und 5 hatten fallende VEGF-Werte. Allerdings war bei näherer Betrachtung zu erkennen, dass die Patienten mit fallenden Werten, die letzte Bevacizumabgabe zwischen 7,1 und 19,0 Wochen hatten, während bei den Patienten mit steigenden Werten die letzte Bevacizumabgabe zwischen 18,9 und 43,3 Wochen zurücklag. (Abb. 11 und 12)

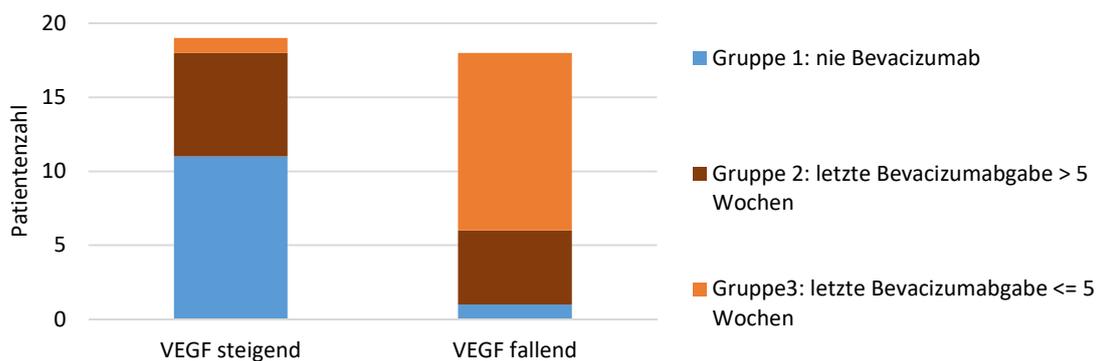


Abb. 11 (oben): Patienten mit steigenden und fallenden VEGF-Werten zum Zeitpunkt Z1, bezogen auf Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Gabe

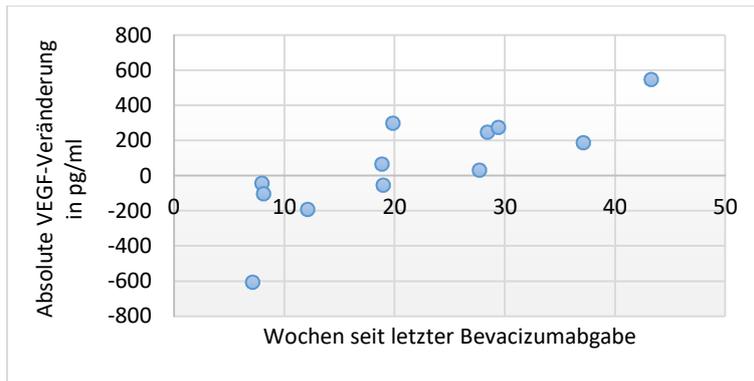


Abb. 12: Absolute VEGF-Veränderung 1 Woche nach 1.DEBIRI abhängig vom Intervall seit letzter Bevacizumabgabe für die Gruppe, deren letzte Gabe mehr als 5 Wochen zurücklag

Zusammenfassend zeigte sich, dass Patienten mit Bevacizumab-Therapie in den letzten 5 Wochen vor DEBIRI überwiegend mit den Werten im Verlauf der Embolisation abfallen, während die Patienten ohne die Anti-VEGF-Therapie im Verlauf ansteigende VEGF-Werte hatten. Patienten deren Bevacizumabtherapie länger zurücklag, zeigten ein heterogenes Bild, wobei auch hier erst bei länger zurückliegender Therapie ansteigende VEGF-Werte zu erkennen waren. Der Verlauf der VEGF-Werte korreliert also mit einer kurzfristig vorausgegangenen Therapie mit dem VEGF-Antikörper Bevacizumab.

Aufgrund der Ergebnisse aus der Auswertung der VEGF-Basalwerte und der VEGF-Verläufe, wurden die Patienten bezüglich einer Vortherapie mit Bevacizumab weiter untersucht. Insbesondere wurde analysiert, ob sich ein Unterschied in den Überlebenszeiten bei den unterschiedlichen Gruppen zeigte. Dies wird im folgenden Kapitel dargelegt.

3.2 Vorbehandlung mit Bevacizumab

25 Patienten hatten zum Zeitpunkt der ersten DEBIRI eine Therapie mit Bevacizumab erhalten, 12 Patienten waren Bevacizumab-naiv. Das mediane Überleben der Patienten mit Bevacizumab-Vorbehandlung betrug 26,71 Wochen (95%-Konfidenzintervall 17,00 – 35,00 Wochen), das mediane Überleben der Patienten ohne Bevacizumab-Vorbehandlung 54,14 Wochen (95%-Konfidenzintervall 25,14 – 97,43 Wochen). Dieser Unterschied im Überleben war statistisch signifikant ($p=0,0409$). (Abb. 13)

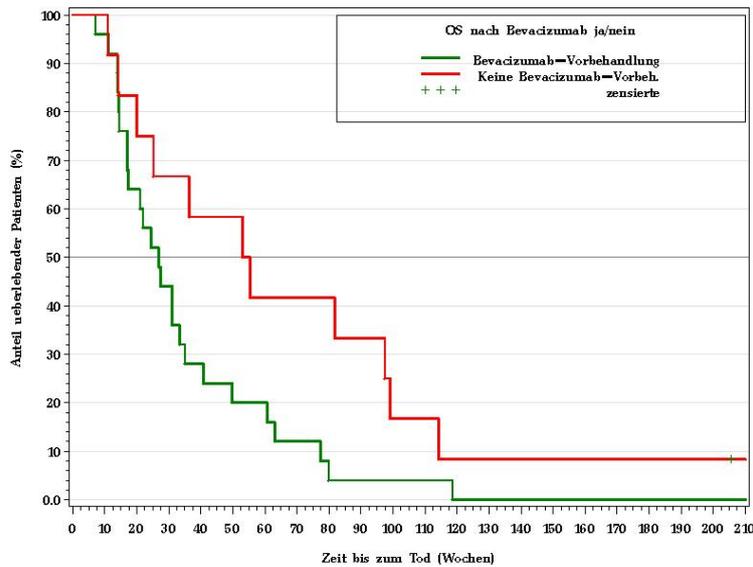


Abb. 13: Gesamtüberleben bezogen auf eine Vorbehandlung mit (grün) oder ohne (rot) Bevacizumab

Bildete man erneut die bereits oben definierten 3 Gruppen, so zeigten sich folgende Werte für das mediane Gesamtüberleben:

Gruppe 1 (Bevacizumab nie erhalten):

54,14 Wochen (95%-Konfidenzintervall 25,14 – 97,43 Wochen)

Gruppe 2 (Bevacizumab zuletzt vor mehr als 5 Wochen):

30,93 Wochen (95%-Konfidenzintervall 14,29 – 60,71 Wochen)

Gruppe 3 (Bevacizumab zuletzt innerhalb der letzten 5 Wochen):

26,71 Wochen (95%-Konfidenzintervall 17,00 – 31,00 Wochen)

Der p-Wert für den Vergleich zwischen diesen drei Gruppen lag bei 0,0477 und zeigte statistische Signifikanz (Abb. 14).

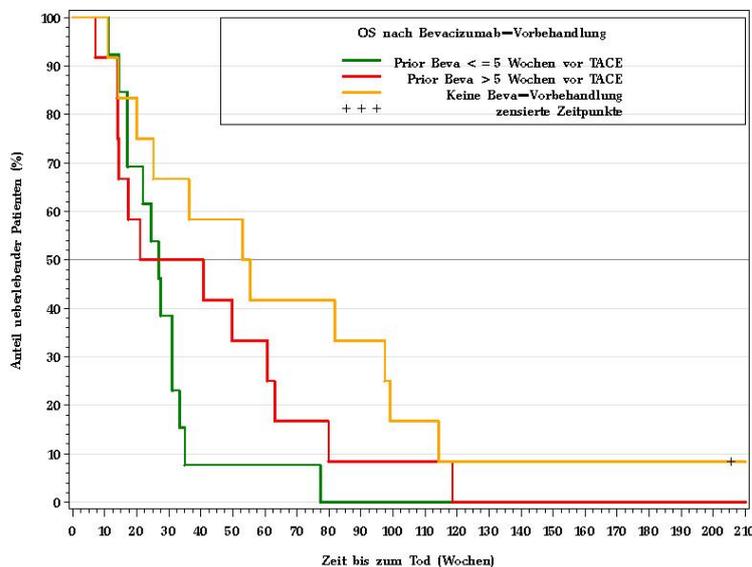


Abb. 14: Gesamtüberleben für die 3 Gruppen:
1. Bevacizumab nie erhalten (gelb),
2. letzte Bevacizumabgabe länger als 5 Wochen her (rot)
3. Bevacizumab zuletzt innerhalb der letzten 5 Wochen (grün)

Demnach scheint das Gesamtüberleben nach einer Salvagetherapie mit einer transarteriellen Chemoembolisation mit DEBIRI schlechter zu sein, wenn eine Vorbehandlung mit dem VEGF-Antikörper Bevacizumab stattgefunden hat. Das Intervall (>/≤ 5 Wochen) zwischen letzter Bevacizumabbehandlung und Beginn der TACE zeigte ebenfalls einen geringen Einfluss auf die Prognose der Patienten.

3.3 Radiologische Auswertung

Jüngste klinische Studien weisen darauf hin, dass die Prognose der Patienten mit metastasiertem CRC umso günstiger ist, je besser das frühe Ansprechen nach 6-8 Wochen auf eine Erstlinien-Chemotherapie ausfällt (Piessevaux et al., 2013).

Wir haben daher das Ansprechen auf die Therapie mit DEBIRI nach 4 und 12 Wochen evaluiert, um daraus ggf. Schlussfolgerungen für die Überlebenszeit der Patienten in dieser Letztlinientherapie ziehen zu können. Die Auswertung erfolgte nach RECIST 1.1- und mRECIST-Kriterien.

Bei der radiologischen Auswertung des Ansprechens der Lebermetastasen wurden 2 Gruppen gebildet.

Responder: Patienten, die eine objektive Remission (PR, CR) oder eine stabile Erkrankungssituation (SD) zeigten.

Non-Responder: Patienten, bei denen nach TACE eine Tumorprogression gesehen wurde, bzw. die bereits verstorben oder deren Bilder nicht auswertbar waren.

Die Auswertung erfolgte nach den RECIST- und nach den mRECIST-Kriterien, jeweils 4 und 12 Wochen nach der ersten Embolisation und zeigte folgende Ergebnisse (Tab. 5 und 6):

	RECIST nach 4 Wochen		RECIST nach 12 Wochen	
	Patientenzahl	%	Patientenzahl	%
PR	1	2,7	3	8,1
SD	25	67,6	12	32,4
PD	9	27,0	18	45,9
Tod	0	0,0	3	10,8
Nicht auswertbar	2	2,7	1	2,7

Tab. 5: Ergebnisse der Auswertung nach RECIST. PR: partielle Remission; SD: stabile Erkrankung; PD: Progression

	mRECIST nach 4 Wochen		mRECIST nach 12 Wochen	
	Patientenzahl	%	Patientenzahl	%
CR	2	5,4	2	5,4
PR	16	43,2	7	18,9
SD	10	27,0	7	18,9
PD	7	21,6	17	45,9
Tod	0	0,0	3	8,1
Nicht auswertbar	2	2,7	1	2,7

Tab. 6: Ergebnisse der Auswertung nach mRECIST. CR: komplette Remission; PR: partielle Remission; SD: stabile Erkrankung; PD: Progression

2 Patienten waren nach 4 Wochen nicht auswertbar, einer nach 12 Wochen. Dies lag daran, dass aufgrund der räumlichen Entfernung die radiologische Kontrolle heimatnah erfolgte und leider nicht die gewünschte Diagnostik erfolgte, sondern ein MRT statt eines CTs durchgeführt wurde, so dass hier die direkte Vergleichbarkeit jeweils fehlte. 3 Patienten waren vor der 12 Wochen Kontrolle verstorben. 2 dieser Patienten zeigten in der Auswertung nach 4 Wochen eine stabile Situation (RECIST) bzw. sogar eine partielle Remission (mRECIST), der dritte zeigte in beiden Auswertungsmethoden eine stabile Erkrankung. Ein Patient starb 7 Wochen und 2 ca. 11 Wochen nach der ersten DEBIRI. Klinisch, laborchemisch und sonographisch konnte bei allen drei Patienten ein Tumorprogress diagnostiziert werden.

3.3.1 Auswertung nach RECIST

Nach 4 Wochen (Tab. 5) war in der Auswertung nach RECIST bei 11 Patienten kein Ansprechen zu sehen. Die mediane Überlebenszeit lag in dieser Gruppe bei 26,71 Wochen (95%-Konfidenzintervall 14,14 – 55,29 Wochen). Zu diesem Zeitpunkt zeigten 26 Patienten zumindest eine stabile Erkrankung. In dieser Gruppe lag die mediane Überlebenszeit bei 31 Wochen (95%-Konfidenzintervall 21,00 – 49,71 Wochen) (Abb. 15). Eine statistische Signifikanz war hier nicht zu erkennen ($p=0,6924$).

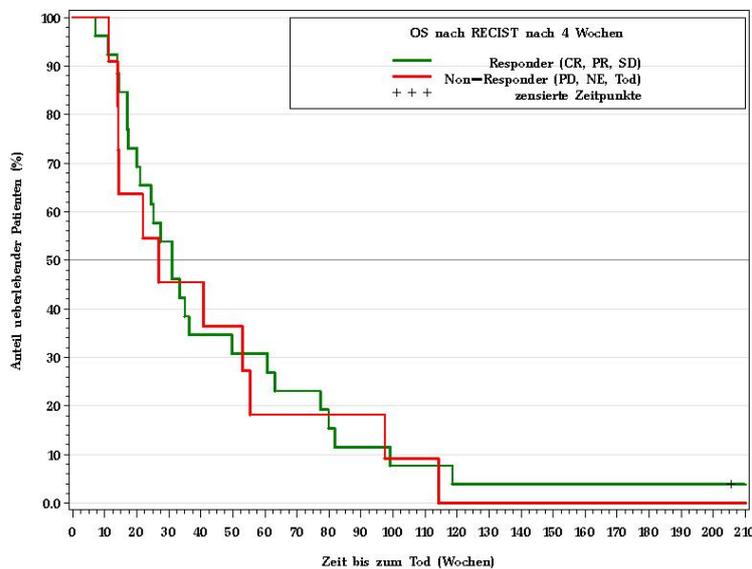


Abb. 15 : Gesamtüberleben für Responder (grün) und Non-Responder (rot) nach 4 Wochen in der Auswertung nach RECIST

In der RECIST-Auswertung nach 12 Wochen (Tab. 5) zeigten Responder (15 von 37 Patienten) ein medianes Gesamtüberleben von 60,71 Wochen (95%-Konfidenzintervall 31,00 – 81.71 Wochen) während Non-Responder (22 von 37 Patienten) lediglich ein medianes Gesamtüberleben von 18,64 Wochen (95%-Konfidenzintervall 14,29 – 33,29 Wochen) erreichten (Abb. 16).

Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p=0,0017$).

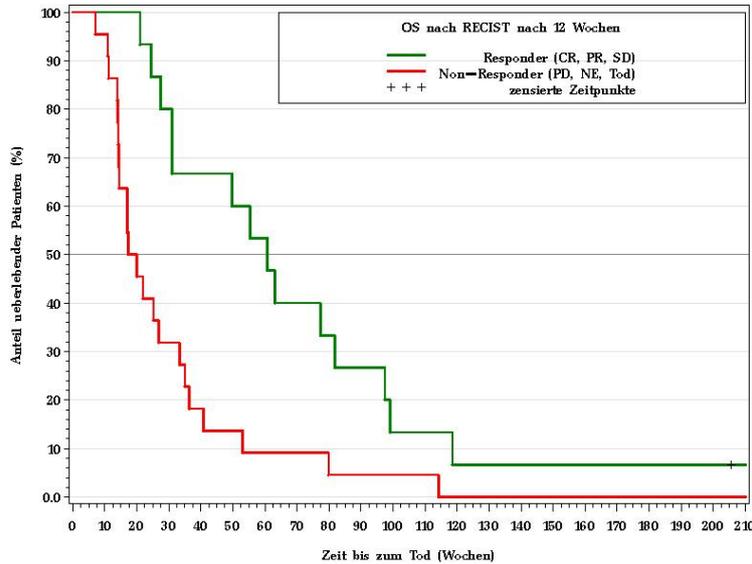


Abb. 16: Gesamtüberleben für Responder (grün) und Non-Responder (rot) nach 12 Wochen in der Auswertung nach RECIST

3.3.2 Auswertung nach mRECIST

Eine Ischämie induzierende Therapie erfordert unter Umständen andere Response-Kriterien als eine herkömmliche medikamentöse Tumortherapie, weil die Messung des Gesamtdurchmessers der Läsion (RECIST) durch ischämiebedingte konsekutive Ödem- und Nekrosebildung nicht unbedingt den Anteil an vitalem Tumorgewebe widerspiegelt (Gillmore et al., 2011, Prajapati et al., 2013). Für die Beurteilung antiangiogener Therapien wurde daher eine Modifikation des Beurteilungssystems entwickelt (mRECIST), das die Beurteilung des Ansprechens auf diese Therapien auf dem Boden der Ausmessung kontrastmittelaufnehmender Tumoranteile verbessern soll (Huppert et al., 2014). Validiert ist dieses Verfahren bisher nur beim HCC (s. Kapitel 2.4)

Deshalb haben wir das Therapieansprechen zusätzlich nach mRECIST ausgewertet.

In der Auswertung nach mRECIST konnte nach 4 Wochen (Tab. 6) bei 28 Patienten eine zumindest stabile Erkrankung gesehen werden, was mit einer medianen Überlebenszeit von 31 Wochen einherging (95%-Konfidenzintervall 21,86 – 55,29 Wochen), während es bei 9 Patienten zu einer Progression kam. Diese Gruppe erreichte eine mediane Überlebenszeit von 25,14 Wochen (95%-

Konfidenzintervall 14,29 – 40,86 Wochen) (Abb. 17). Der p-Wert lag bei 0,2672. Analog zur Auswertung nach RECIST, war das Ansprechen nach 4 Wochen auch hier nicht von prognostischer Aussagekraft.

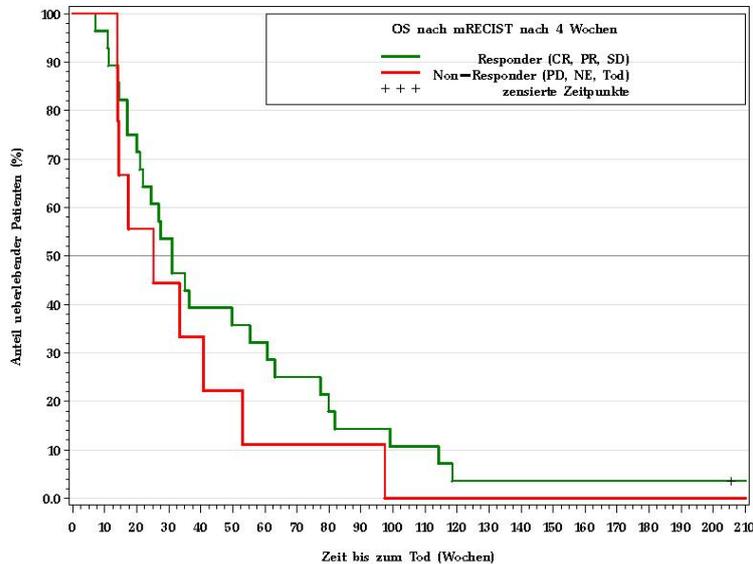


Abb. 17: Gesamtüberleben für Responder (grün) und Non-Responder (rot) nach 4 Wochen in der Auswertung nach mRECIST

In der mRECIST-Auswertung nach 12 Wochen (Tab. 6) zeigte sich bei 16 Patienten ein Response oder eine Stabilisierung, was zu einer medianen Überlebenszeit von 42,36 Wochen (95%-Konfidenzintervall 25,14 -63,00 Wochen) führte. Bei 21 Patienten war ein Progress zu erkennen. Diese Patienten erreichten eine mediane Überlebenszeit von 21,86 Wochen (95%-Konfidenzintervall 14,43 – 36,29 Wochen) (Abb. 18). Dieser Unterschied zeigte keine statistische Signifikanz mit einem p-Wert von 0,3633.

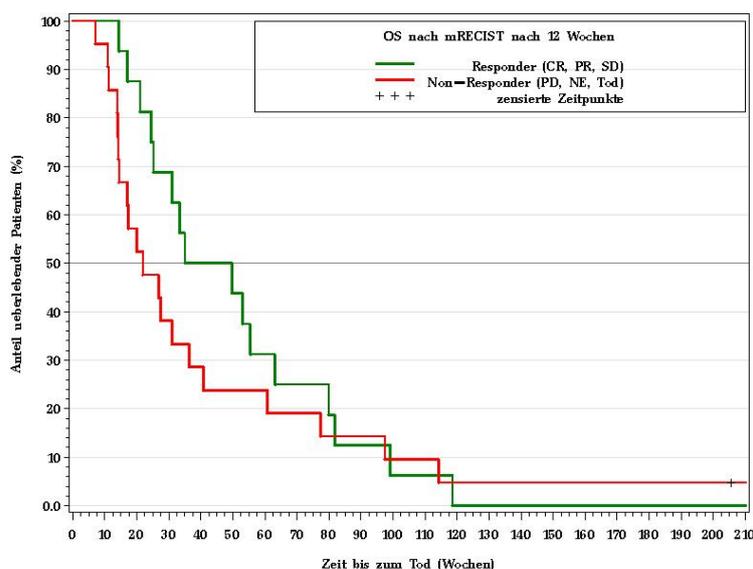


Abb. 18: Gesamtüberleben für Responder/Non-Responder nach 12 Wochen in der Auswertung nach mRECIST

In unserer Untersuchung war RECIST nach 12 Wochen besser geeignet, Gruppen mit unterschiedlicher Prognose voneinander zu trennen, als mRECIST. Bei der Analyse nach modifizierten Response-Kriterien zeigte sich beim Ansprechen nach 12 Wochen lediglich numerisch ein höheres medianes Gesamtüberleben bei den Respondern, ohne statistische Signifikanz zu erreichen.

3.4 Korrelation von VEGF und radiologischer Auswertung

Zur Evaluation, ob die VEGF-Werte oder der VEGF-Verlauf eine Vorhersagekraft auf die Wirkung der DEBIRI haben, wurden die Werte mit dem radiologischen Ansprechen korreliert. Hierfür wurden erneut Responder und Non-Responder nach RECIST und mRECIST nach den unter 3.3 genannten Kriterien zu den Untersuchungszeitpunkten nach 4 und 12 Wochen gruppiert.

Die VEGF-Basalwerte zeigten in den Auswertungen nach RECIST ($p=0,5159$), sowie in der mRECIST-Auswertung ($p=0,7336$) nach 12 Wochen keine Korrelation zum Ansprechen. Ebenso ergab die Auswertung nach RECIST nach 4 Wochen ($p=0,3876$) keine statistische Signifikanz. In der mRECIST-Auswertung nach 4 Wochen konnte eine Korrelation festgestellt werden mit einem p von $0,0120$. Dabei waren die VEGF-Basalwerte in der Gruppe der Patienten mit Response signifikant höher als bei den Patienten ohne Response. Höhere VEGF-Werte sagten daher eher ein Ansprechen voraus, als niedrigere.

Bei den VEGF-Werten zu Zeitpunkt 1 verhielt es sich ebenso. Nur die Untersuchung nach 4 Wochen in der Auswertung nach mRECIST zeigte mit einem p von $0,0436$ eine Korrelation zu den VEGF-Werten. Auch hier zeigten höhere Werte ein Ansprechen an.

Die relativen VEGF-Veränderungen zu Zeitpunkt 1 korrelierten mit dem radiologischem Ansprechen zu Woche 4, sowohl in der Auswertung nach RECIST ($p=0,0499$), als auch in der nach mRECIST ($p=0,0499$). Ein Abfall der Werte zeigte dabei ein Ansprechen an. Nach 12 Wochen zeigte sich mit beiden Beurteilungsmethoden keine Korrelation ($p=0,2929$ und $p=0,9507$). Dies betraf auch die absoluten VEGF-Veränderungen zum Zeitpunkt 1, wobei zu jeweils beiden Untersuchungszeitpunkten, weder nach RECIST noch nach mRECIST, eine Korrelation mit dem Ansprechen hergestellt werden konnte.

3.5 Weitere potenziell prognostische oder prädiktive Faktoren

In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass mehrere unabhängige Faktoren als Prognosemarker vor geplanter Metastasenresektion fungieren können. Hierzu zählen der primäre Nodalstatus, der CEA-Wert, die Größe und Anzahl der Metastasen, der Performance-Status, sowie die Dauer des krankheitsfreien Überlebens (Sorbye et al, 2012; Fedorowicz et al.; 2011; Clark & Smith, 2014). Daher haben wir weitere Faktoren untersucht, die eventuell auch in dieser Letztlinientherapie noch Einfluss auf das Gesamtüberleben haben könnten. Dazu gehören eine vorherige Leberresektion ($p=0,9966$), die Größe der Lebermetastasen ($>/\leq 5\text{cm}$, $p=0,8912$), sowie die Größe der benutzten Beads ($75 - 100\ \mu\text{m}$ oder $100 - 300\ \mu\text{m}$, $p=0,5468$). Keiner dieser Faktoren ergab einen Unterschied im Gesamtüberleben. Auch das Vorliegen einer extrahepatischen Metastasierung zeigte keine Verschlechterung des Gesamtüberlebens gegenüber den Patienten mit alleiniger Leberfilialisierung (Median 31,0 vs. 31,5 Wochen, $p=0,5716$). Einzig der primäre Nodalstatus konnte eine Verbesserung des Gesamtüberlebens vorhersagen.

In unserer Analyse hatten 24 Patienten bei Erstdiagnose einen positiven Nodalstatus, 10 einen negativen. Bei 3 Patienten konnte der initiale Nodalstatus im Nachhinein nicht mehr bestimmt werden. Das mediane Überleben nach DEBIRI der primär nodalpositiven Patienten betrug 28,86 Wochen (95%-Konfidenzintervall 20,00 – 40,86 Wochen). Das mediane Überleben der nodalnegativen Patienten wurde mit 73,57 Wochen (95%-Konfidenzintervall 25,14 – 114,14 Wochen) berechnet (Abb. 19).

Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p=0,0076$). Damit behielt dieser primäre Prognosefaktor in unserer Untersuchung auch für die Letztlinientherapie seine Bedeutung.

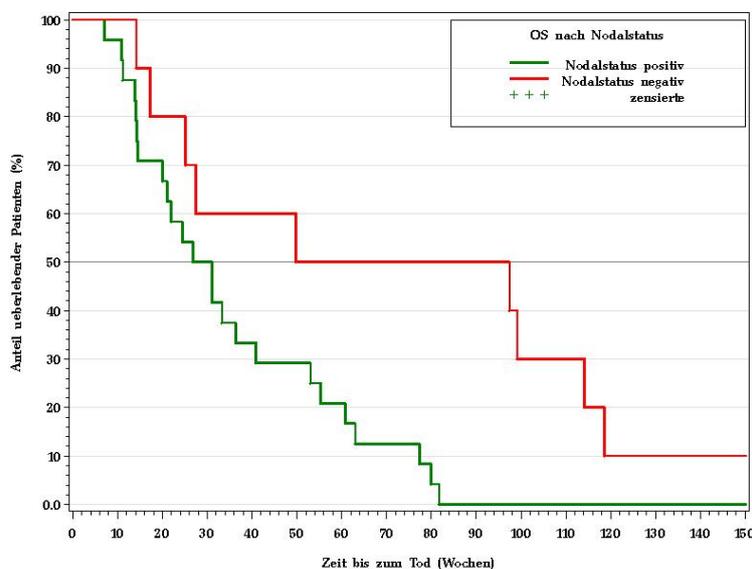


Abb. 19: Gesamtüberleben für Patienten mit positivem und negativem Nodalstatus bei der Erstdiagnose

Bei der Betrachtung der Metastasenzahl konnte ein Unterschied im Gesamtüberleben gesehen werden ohne statistische Signifikanz ($p=0,2470$) zu erreichen. Die Patienten wurden in 3 Gruppen unterteilt. 5 Patienten hatten weniger als 3 Metastasen, 15 hatten 3 bis 10 Filiae und bei 17 Patienten waren mehr als 10 Metastasen vorhanden. Die mediane Überlebenszeit lag in der ersten Gruppe bei 77,29 Wochen (95%-Konfidenzintervall 31,00 bis 97,43 Wochen), in der zweiten Gruppe bei 33,29 Wochen (95%-Konfidenzintervall 21,86 bis 55,29 Wochen) und in der Gruppe mit mehr als 10 Leberfiliae bei 21 Wochen (95%-Konfidenzintervall 14,14 bis 35 Wochen). (Abb. 20)

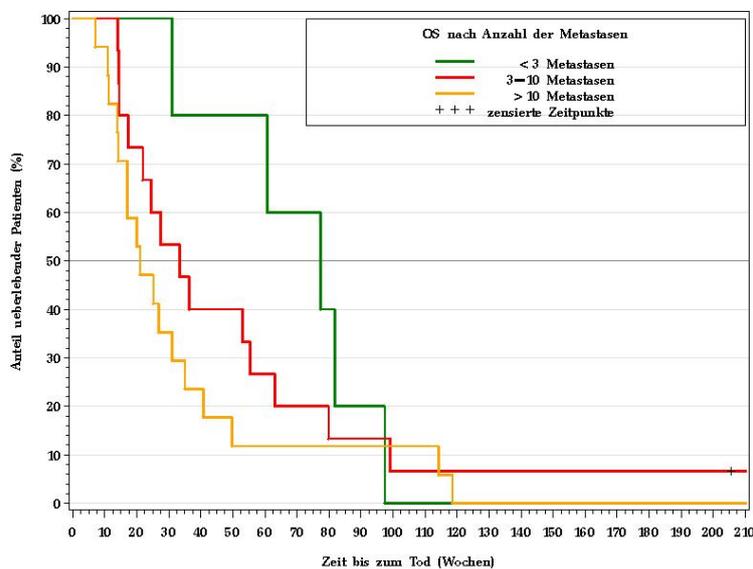


Abb. 20: Gesamtüberleben unterteilt nach Anzahl der Metastasen
 <3 Metastasen: grün;
 3-10 Metastasen: rot;
 >10 Metastasen: gelb.

4. Diskussion

Die Therapie des metastasierten kolorektalen Karzinoms konnte in den letzten Jahren durch die Entwicklung neuer Medikamente und neuer Therapieregime deutlich verbessert werden.

Dennoch kommt es im Verlauf der Erkrankung regelhaft dazu, dass die Tumorzellen refraktär auf die verabreichten Substanzen werden, wodurch eine Tumorprogression entsteht, die letztendlich zum Tod des Patienten führt.

Neben den etablierten Chemotherapeutika 5-Fluorouracil, Oxaliplatin und Irinotecan, konnte vor allem durch sog. zielgerichtete Substanzen eine Verbesserung der Ansprechraten, der Zeit bis zur Tumorprogression und der Überlebenszeit erzielt werden. Hierzu zählen insbesondere die EGF-Rezeptorantikörper Cetuximab und Panitumumab, sowie der VEGF-Antikörper Bevacizumab. Hinzu kamen zuletzt das gegen VEGF A und VEGF B sowie gegen den plazentaren Wachstumsfaktor gerichtete Fusionsprotein Aflibercept, der VEGF-Rezeptor-2-Antikörper Ramucirumab und der Tyrosinkinaseinhibitor Regorafenib. Des Weiteren wurde vor kurzem die Kombination aus dem zytostatisch wirkendem Thymidinanalogon Trifluridin und dem Thymidinphosphorylaseinhibitor Tipiracil (TAS-102, Lonsurf®) zur Behandlung zugelassen.

4.1 Gesamtüberleben im Vergleich zu anderen Salvagetherapien

In unsere Studie wurden Patienten nach Versagen aller Standardtherapien beim kolorektalen Karzinom bzw. mit Kontraindikationen gegen die Verabreichung einzelner Medikamente eingeschlossen. Die Patienten erhielten eine regionale Therapie der Leber mit Irinotecan beladenen Drug-Eluting Beads. Durch diese Salvagetherapie wurde ein medianes Gesamtüberleben von 31 Wochen, also etwas mehr als 7 Monate, erreicht.

Obwohl sog. Inter-Studienvergleiche immer mit Vorbehalt zu betrachten sind, haben wir unsere Überlebensdaten auf die anderer Salvagetherapien bezogen. Verglichen mit älteren Studien (nach Versagen von Oxaliplatin, Irinotecan und 5-FU) beim kolorektalen Karzinom sind unsere Ergebnisse z.T. etwas schlechter. Eine Kombination aus Cetuximab und Irinotecan verglichen mit Cetuximab allein, zeigte ein Gesamtüberleben von 8,6 Monaten für die Kombinations- und 6,9 Monate für die Monotherapie (Cunningham et al., 2004). In dieser Studie hatten allerdings nur 60% der Patienten eine vorherige oxaliplatinhaltige Therapie und nur ca. 45% hatten vorab mehr als 2 Therapielinien erhalten (Cunningham et al., 2004.) In der CO.17-Studie zeigte eine Cetuximabmonotherapie verglichen mit BSC ein OS von 6,1 Monate für die Therapiegruppe und 4,6 Monate für die BSC-Gruppe (Jonker et al., 2007). Hier hatten über 95% der Patienten

Irinotecan und Oxaliplatin und über 80% mehr als 2 Therapielinien vorab erhalten (Jonker et al., 2007). Eine retrospektive Analyse der Patienten mit kras-Wildtyp erbrachte für diese Gruppe ein Gesamtüberleben 9,5 Monaten für Cetuximab und von 4,8 Monaten für BSC (Ohhara et al, 2016). In einer Studie in der Panitumumab mit BSC verglichen wurde, allerdings nur mit Patienten mit kras-Wildtyp, konnte ein OS von 8,1 Monaten für die Therapiegruppe und 7,6 Monaten für die BSC-Gruppe erreicht werden. Hier war allerdings nach Tumorprogression ein crossover möglich (Ohhara et al, 2016). Die Vergleichbarkeit mit diesen Studien ist insofern schwierig, da zu diesen früheren Zeitpunkten weniger etablierte Therapien zur Verfügung standen und die Patienten dementsprechend weniger Therapielinien insgesamt, sowie auch noch keine zielgerichteten Therapien erhalten hatten. Dennoch zeigte sich überwiegend ein besseres Gesamtüberleben in unserer Untersuchung als in den BSC-Armen der erwähnten Studien.

In der sog. CORRECT-Studie, die bis 2011 lief, wurde Regorafenib gegen Placebo getestet. Es wurden Patienten mit metastasierten kolorektalen Karzinomen nach Ausschöpfen aller zugelassenen Therapien eingeschlossen, wozu damals auch die zielgerichteten Medikamente zählten (Grothey et al., 2012). Das Gesamtüberleben lag mit Regorafenib bei 6,4 Monaten und mit Placebo bei 5 Monaten (Grothey et al., 2012).

Die RECURSE-Studie hatte dieselben Eingangsvoraussetzungen. Auch hier wurde in der Last-line-Therapie gegen Placebo getestet (Mayer et al., 2015). Die Kombination aus Trifluridin und Tipiracil (TAS-102) konnte die mediane Überlebenszeit gegenüber der Kontrollgruppe von 5,4 auf 7,1 Monate signifikant verbessern (Mayer et al., 2015).

In unserer Studie hatten wir keine Vergleichsgruppe geplant, da ein Vergleich nicht das primäre Ziel der Untersuchung war. Zudem existierte zum Zeitpunkt der Untersuchung (2011-2012) keine zugelassene Therapieoption für diese Patienten. Die Charakteristika der Patienten in den beiden oben genannten Studien sind allerdings gut mit denen unserer Patienten vergleichbar. Das mediane Alter lag in der CORRECT-Studie bei 61, in der RECURSE-Studie bei 63 und in unserer Untersuchung bei 64 Jahren (Grothey et al., 2012, Mayer et al., 2015). Jeweils ca. zwei Drittel hatten ein Kolon-, ein Drittel ein Rektumkarzinom und jeweils ca. die Hälfte der Patienten wiesen eine k-ras-Mutation auf (Grothey et al., 2012, Mayer et al., 2015). Die gängigen Zytostatika (5-FU, Oxaliplatin, Irinotecan) hatten alle Patienten erhalten und ein EGFR-Antikörper wurde bei allen Patienten mit k-ras-Wildtyp verabreicht, sofern keine Kontraindikationen vorlagen (Grothey et al., 2012, Mayer et al., 2015). Patienten bei denen mindestens 4 Vortherapien verabreicht wurden, waren in der CORRECT- und in der RECURSE-Studie etwas häufiger vertreten als in unserer Studie (50% vs. 60% vs. 35%) und nur 68% unserer Patienten erhielten vorab Bevacizumab

gegenüber 100% in den beiden randomisierten Studien (Grothey et al., 2012, Mayer et al., 2015). Auch hatten ca. 20% der Patienten in der RECURSE-Studie bereits Regorafenib erhalten (Mayer et al., 2015). Trotz der bereits oben erwähnten Problematik der hier aufgeführten Vergleiche zwischen unterschiedlichen Studien, erscheint die von uns durchgeführte Behandlung mittels Chemoembolisation zu einem besseren Gesamtüberleben zu führen, als dies die BSC-Gruppen der beiden oben genannten randomisierten Studien aufwiesen. Auch gegenüber der Behandlungsgruppe mit Regorafenib oder mit TAS-102 zeigt die DEB-TACE eine offenbar vergleichbare Wirksamkeit.

Die DEB-TACE scheint also eine wirksame und gut durchführbare Salvagetherapie darzustellen. Natürlich ist zur definitiven Klärung der Überlegenheit oder Nicht-Unterlegenheit gegenüber anderen Salvagetherapien eine prospektiv randomisierte Studie notwendig, wobei hier auch eine Evaluation der Lebensqualität und der Nebenwirkungen mit eingeschlossen werden sollte.

4.2 Klinische Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit unserer Therapie

Es existieren verschiedene Prognosescores für die Resektion kolorektaler Lebermetastasen. Matias et al. haben in einem Review 19 dieser Scores untersucht, die 30 verschiedene unabhängige Einflussfaktoren beinhalteten. Die am häufigsten verwendeten Größen waren der primäre Lymphknotenstatus, die Anzahl der Lebermetastasen, der präoperative CEA-Wert und die maximale Metastasengröße (Matias et al., 2015). Die Anzahl der Lebermetastasen war in allen 19 Scoringssystemen integriert und zeigte in 15 davon bei höheren Werten eine negative Prognose an, allerdings variierte die Zahl, die als Grenze definiert wurde zwischen mehr als einer und mehr als acht Filiae (Matias et al., 2015). Der primäre Lymphknotenstatus wurde bei 18 dieser Studien verwendet, wovon 12 Studien ihn als negativen prognostischen Faktor herausarbeiten konnten, während er bei den anderen sechs keine Signifikanz erbrachte (Matias et al., 2015). Der präoperative CEA-Wert konnte in neun von achtzehn Untersuchungen als negative prognostische Größe identifiziert werden, wobei hier Grenzwerte zwischen 5 und 200 ng/ml festgelegt wurden (Matias et al., 2015). Die maximale Größe der Leberfiliae korrelierte in 8 von 16 Studien mit einer ungünstigen Prognose, wobei am häufigsten die Grenze auf 5 cm, aber in einigen Untersuchungen auch auf 8 cm festgelegt wurde (Matias et al., 2015). Es wurden verschieden große Patientenkollektive aus den Jahren 1968 bis 2007 untersucht, wobei eine extrahepatische Metastasierung nur in neun dieser Untersuchungen vorhanden war (Matias et al., 2015). In den anderen galt diese als Ausschlusskriterium (Matias et al., 2015). In 7 von 9 Studien konnte diese als negativer Prognosefaktor belegt werden (Matias et al., 2015).

Anzahl und Größe der Metastasen hatten in unserer Untersuchung keinen Einfluss auf das Überleben der Patienten. Huppert et al. zeigten in ihrer Untersuchung, dass bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen, die mit Irinotecan-beladenen SAP-Mikrosphären behandelt wurden, das Überleben deutlich besser war, wenn das initiale Tumolvolumen weniger als 25% des Lebervolumens ausmachte (21 Monate vs. 5 Monate bei >50%) (Huppert et al., 2014). Dies erscheint erklärlich, da das Volumen natürlich besser die Tumorlast widerspiegelt, als die Anzahl der Filiae oder der Durchmesser der größten Metastase allein. Diese Einzelparameter scheinen also keine guten Surrogatmarker für die Tumorlast zu sein. Bei Zugrundelegung nur der größten Filia (>/≤ 5cm) zeigte sich bei uns kein Unterschied im Überleben (p=0,892). Bei der Unterscheidung durch die Anzahl der Metastasen (<3, 3-10, >10 Filiae) konnten wir zwar einen positiven Trend in den Überlebenszeiten (77 vs. 33 vs. 21 Wochen) sehen, dieser war aber nicht signifikant (p=0,2470). Die gut erkennbare Trennung der Kurven (Abb. 20) im anfänglichen und mittleren Bereich legt die Vermutung allerdings nahe, dass die Patientenzahl zu gering war, um eine Signifikanz zu zeigen. So könnte die Anzahl der Metastasen in einem größeren Patientenkollektiv durchaus einen prognostischen Faktor darstellen, zumal er einfacher zu messen ist, als das Tumolvolumen.

Das Vorhandensein einer extrahepatischen Metastasierung war ebenfalls kein Faktor, der in unserer Untersuchung einen Unterschied im Gesamtüberleben anzeigte. Dies ist insofern von klinischer Bedeutung, als z.B. die Zulassung für die intra-arterielle Radiotherapie der Leber (SIRT) ausdrücklich auf Patienten mit isolierter Lebermetastasierung beschränkt ist, obwohl zu dieser Frage nur die SIRFLOX-Studie als prospektiv randomisierte Phase-III-Studie voll publiziert vorliegt, in der sich kein Überlebensvorteil für den SIRT-Arm zeigte (Van Hazel et al., 2016). In dieser Studie hatten ca. 40% der Patienten eine extrahepatische Metastasierung (van Hazel et al., 2016). Das PFS in der Leber war allerdings signifikant besser im experimentellen Arm (van Hazel et al., 2016). In dieser Situation der Erstlinientherapie mit extrahepatischen Filiae scheint eine Regionaltherapie der Leber gegenüber einer systemischen Therapie keinen wirklichen Vorteil für die Patienten zu bringen. In unserer Studie war eine Metastasierung außerhalb der Leber nur dann ein Ausschlusskriterium, wenn diese Metastasen progredient waren oder wenn nicht die hepatische, sondern die extrahepatische Metastasierung im Vordergrund stand (führende klinische Symptomatik). Unsere Ergebnisse (OS 31,5 Wochen (KI 17,00-63,00) vs. 31,00 Wochen (KI 21,00-53,00) mit und ohne extrahepatische Metastasierung) weisen darauf hin, dass eine solche, differenzierte Bewertung von Metastasen außerhalb der Leber sinnvoll ist. Die Regionaltherapie bei dominanter Lebermetastasierung wirkt im Hinblick auf die Prognose der Patienten offenbar unabhängig

davon, ob (stabile) extrahepatische Metastasen vorliegen, zumindest in der Situation nach mehreren Vortherapien und fehlenden systemischen Therapieoptionen.

Als Einflussfaktor auf das Gesamtüberleben unserer Patienten konnten wir den Nodalstatus bei der Primärdiagnose (pN) identifizieren. Bei initial nodalnegativen Patienten konnte ein deutlich besseres Gesamtüberleben nach DEB-TACE registriert werden als bei nodalpositiven. Dies erscheint aufgrund der teilweise mehrere Jahre zurückliegenden Erstdiagnose unserer Patienten zunächst nicht erklärbar zu sein. Allerdings gilt das primäre pN in verschiedenen Prognosescores für die metastasierte Erkrankung als gut validierter Risikofaktor (Clark & Smith, 2014; Matias et al, 2015). Kolorektale Karzinome, die bereits bei Erstdiagnose eine lymphogene Metastasierung aufweisen, sind offenbar nicht nur weiter fortgeschritten, als Lymphknoten negative Tumoren. Vielmehr weisen sie eine aggressivere Tumorbiologie auf, die auch bei späteren Therapielinien noch von prognostischer Bedeutung ist. Insofern halte ich es nicht für zufällig, dass der primäre Nodalstatus auch in unserer Studie einen statistisch signifikanten Unterschied im Überleben der Patienten erbrachte.

4.3 Die Methodik der radiologischen Auswertung und ihr Einfluss auf das Tumoransprechen als prognostischer oder prädiktiver Faktor

Jeder befallene Leberlappen sollte in unserer Studie zweimal behandelt werden. Bei nur einem befallenen Lappen war die Pause zwischen den Therapien 4 Wochen, bei beidseitigem Befall 2 Wochen, wobei in letzterem Fall jeweils abwechselnd rechts und links behandelt wurde. Somit war nach 4 Wochen erst die Hälfte der geplanten Therapie abgeschlossen. Dennoch haben wir vorab festgelegt, dass nach 4 Wochen eine erste Kontrolle mittels CT der Leber stattfinden sollte, um im Nachhinein auszuwerten, ob bereits zu diesem frühen Zeitpunkt durch ein bildgebendes Verfahren zwischen Patienten mit längerer und kürzerer Überlebenszeit unterschieden werden kann. Die Rationale lag darin, ggf. künftig Patienten ohne Aussicht auf Erfolg eine weitere Behandlung zu ersparen. Hinweise darauf, dass eine solche Strategie sinnvoll sein kann, ergaben sich aus großen randomisierten Studien.

Zum einen in Studien, die Chemotherapie mit EGF-Rezeptorinhibitoren kombinierten. In der CRYSTAL-Studie wurde FOLFIRI mit und ohne Cetuximab verglichen, in der OPUS-Studie FOLFOX mit und ohne Cetuximab (Piessevaux, 2013). Dies waren multizentrische, randomisierte Phase-III bzw. Phase-II-Studien für die Erstlinientherapie beim metastasierten kolorektalen Karzinom, bei denen in einer nachträglichen Analyse das radiologische Ansprechen nach acht Wochen untersucht wurde (Piessevaux, 2013). Es konnte gezeigt werden, dass eine Tumorreduktion von

mehr als 20% zu diesem Zeitpunkt prädiktiv für eine Verbesserung des PFS und des OS war (Piessevaux, 2013). Die Vorhersagekraft des frühen Tumoransprechens nach 8 Wochen für die Überlebenszeit der Patienten war ausgeprägter bei den Patienten mit k-ras-Wildtyp (CRYSTAL: PFS 14,1 vs. 7,3 Monate und OS 30,0 vs. 18,6 Monate; OPUS: PFS 11,9 vs. 5,7 Monate und OS 26,0 vs. 15,7 Monate), zeigte sich aber auch bei Patienten mit k-ras-mutierten Tumoren (Piessevaux, 2013). In der BOND-Studie, in der Patienten nach Versagen einer Irinotecan-basierten Chemotherapie anschließend mit Cetuximab mit oder ohne Irinotecan behandelt wurden, konnte ebenfalls gezeigt werden, dass eine Tumorreduktion von mehr als 10% nach 6 Wochen, prädiktiv für TTP (6,1 vs. 1,5 Monate) und OS (13,7 vs. 5,9 Monate) waren (Piessevaux, 2009). Demnach scheint auch in fortgeschrittenen Therapielinien eine schnelle Tumorreduktion noch prädiktiv für das Gesamtüberleben zu sein (Piessevaux, 2009).

Wie in Kap. 2.5 beschrieben, führten wir nach 4 und 12 Wochen eine Responsebeurteilung nach RECIST- und mRECIST-Kriterien durch, wobei die Krankheitskontrolle und nicht die Remission zugrunde gelegt wurde (Responder: CR, PR, SD; Non-Responder: PR, nicht auswertbar und verstorbene Patienten). Fasst man das Ansprechen so in die beiden Gruppen Responder und Non-Responder zusammen, so sieht man, dass nach 4 Wochen etwas mehr Patienten in der Auswertung nach mRECIST (CR: 2, PR: 16, SD 10 Pat.) ein Ansprechen zeigten als bei der Auswertung nach RECIST (keine CR, PR: 1, SD 25 Pat.). Eine statistische Signifikanz in Bezug auf das Gesamtüberleben konnte allerdings nach beiden Kriterien nicht nachgewiesen werden (RECIST: $p=0,6924$, mRECIST: $p=0,2672$), so dass eine radiologische Untersuchung nach 4 Wochen in unserer Studie keine prädiktive oder prognostische Aussagekraft hatte.

Nach 12 Wochen zeigten sich sowohl in der Auswertung nach RECIST (keine CR, PR: 3, SD: 12 Pat.), als auch in der nach mRECIST (CR: 2, PR: 7, SD: 7 Pat.) fast identische Patientenzahlen, wenn das Ansprechen entsprechend der o.g. Definition gruppiert wurde. 15 Patienten fielen nach RECIST in die Gruppe der Responder und 16 Patienten nach mRECIST. Hier zeigte sich in beiden Auswertungsmethoden ein deutlicher Unterschied in den Überlebenszeiten, welcher aber bei der Auswertung nach RECIST noch deutlicher zutage trat und auch nur in dieser eine statistische Signifikanz erreichte (RECIST: $p=0,0017$, mRECIST: $p=0,3633$).

Literaturangaben zur Auswertung einer Regionaltherapie beim **Leberzellkarzinom** zeigen überwiegend eine bessere Aussagekraft, wenn die Bewertung nach mRECIST- oder EASL-Kriterien erfolgt (Gillmore et al., 2011). In einigen Studien konnte beobachtet werden, dass ein Ansprechen auf eine regionale oder antiangiogene Therapie, wie z.B. Sorafenib, besser nachvollzogen werden kann, wenn nicht der Gesamtdurchmesser (RECIST), sondern der Durchmesser der

kontrastmittelaufnehmenden Tumoranteile (mRECIST oder EASL) für die Beurteilung zugrunde gelegt wird (Gillmore et al., 2011; Prajapati et al., 2013). Als Hypothese wird formuliert, dass eine antiangiogene Therapie und auch eine Embolisation eine Nekrose im Tumor hervorruft, wobei es durch konsekutive Ödembildung zu einer Zunahme des Gesamttumordurchmessers kommen kann (Gillmore et al., 2011; Prajapati et al., 2013). Vor allem wenn ein Ansprechen gezeigt werden kann, korreliert dieses bei letzteren Auswertungskriterien auch mit einem besseren Gesamtüberleben, während bei der Diagnose einer Tumorprogression die Auswertungsmethoden gleichwertig sind. (Gillmore et al., 2011; Prajapati et al., 2013).

Das HCC ist in der Regel ein stark vaskularisierter Tumor. Hierbei erfolgt die Auswertung der kontrastmittelaufnehmenden Tumoranteile nach mRECIST in den Bildern der arteriellen Phase der Computertomographie, während wir bei unserer Auswertung die Bilder der venösen Phase zugrunde gelegt haben, da die Metastasen eines kolorektalen Karzinoms in dieser besser beurteilbar sind. Allerdings ist diese Vorgehensweise nicht validiert. In einer Untersuchung von Huppert et al. nach TACE mit Irinotecan beladenen SAP-Beads® bei hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom konnte gezeigt werden, dass die Auswertung nach mRECIST- und EASL-Kriterien ein Therapieansprechen besser beurteilen kann, als mit den RECIST-Kriterien (Huppert et al., 2014). Eine Korrelation mit den Überlebensdaten wurde nicht hergestellt (Huppert et al., 2014). In einer anderen Untersuchung haben Chapiro et al. in einer retrospektiven Analyse an 29 Patienten mit hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom, die mit einer intraarteriellen Chemo- bzw. Radioembolisation behandelt wurden, den prädiktiven Wert verschiedener radiologischer Auswertungsmethoden untersucht. Hierbei wurden die Ansprechraten in der portalvenösen Phase einer Magnetresonanztomographie nach RECIST-, WHO-, EASL- und mRECIST-Kriterien, sowie zweier 3D-gestützter Verfahren bewertet und mit den Überlebensdaten korreliert (Chapiro et al., 2015). In dieser Studie konnten die EASL- und mRECIST-Kriterien zwar besser Ansprechen (CR, PR) und Nicht-Ansprechen (SD, PD) differenzieren als die RECIST- und WHO-Kriterien. Sie waren aber, ebenso wie die letztgenannten, nicht in der Lage, eine statistisch signifikante, prädiktive Aussage bezüglich des Gesamtüberlebens zu treffen (Chapiro et al., 2015). Einzig eines der 3D-gestützten Verfahren, welches die kontrastmittelaufnehmenden Anteile des Tumors berechnete, konnte statistisch signifikant die Patientengruppen 6 Wochen nach Therapie bezüglich der Überlebenszeiten unterscheiden (Chapiro et al., 2015). Allerdings wurde hier eine kleine Patientengruppe untersucht, welche mit unterschiedlichen Modalitäten behandelt worden war.

In unserer Auswertung nach mRECIST zeigte sich nach 12 Wochen für die Responder ein Trend zum besseren Gesamtüberleben, so dass diese Methode durchaus auch beim kolorektalen

Karzinom nach ischämieinduzierender Therapie aussagekräftig sein könnte, was vermutlich durch eine zu geringe Patientenzahl keine statistische Signifikanz erreichte (42,4 vs. 21,9 Wochen, $p=0,3633$). Die 12-Wochen-Auswertung nach RECIST zeigte allerdings eine statistisch signifikante Vorhersage bezüglich des Gesamtüberlebens für Patienten mit einer Krankheitsstabilisierung (60,7 vs. 18,6 Wochen, $p=0,0017$).

Somit hatte in unserer Untersuchung eine nach RECIST nachgewiesene Krankheitsstabilisierung nach 3 Monaten eine prognostische Aussagekraft, während dies in der Auswertung nach mRECIST nicht zutraf. Ob nach einer antiangiogenen Therapie wie einer Chemoembolisation, radiologische Auswertungsmethoden, die die Kontrastmittelaufnehmenden Tumoranteile zur Beurteilung des Therapieansprechens zugrunde legen, auch bei kolorektalen Metastasen wirklich besser geeignet sind, als die Auswertung nach RECIST, wie es beim HCC der Fall ist, muss in weiteren Studien evaluiert werden. Zumindest in unserer Untersuchung zeigte sich keine bessere Aussagekraft.

Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Untersuchungsmodalitäten nicht einheitlich waren, weil Patienten uns z.T. nur zur Durchführung der Regionaltherapie zugewiesen wurden. Einige Patienten kamen mit auswärts angefertigten Untersuchungen und bei einigen wurden die Verlaufskontrollen ebenfalls nicht in unserer Klinik, also mit den in unserem Hause definierten Standards der CT-Untersuchung durchgeführt. Außerdem wurden bei Patienten, die initial ein MRT erhalten hatten, auch die Verlaufskontrollen mittels MRT durchgeführt. Auch diese Umstände können dazu geführt haben, dass die Voraussetzungen für die radiologische Auswertung nicht ideal waren. Die Kontrastmittelphasen sind durch unterschiedliche Protokolle an verschiedenen Kliniken nicht einheitlich, wodurch die Aussagekraft der mRECIST-Auswertung nach TACE eingeschränkt gewesen sein könnte.

4.4 VEGF –Verhalten und dessen Aussagekraft

Wir haben den VEGF-Serumspiegel unserer Patienten am Tag vor der ersten DEBIRI eines jeden Leberlappens und jeweils eine Woche danach gemessen. Wir wollten sehen, ob anhand der VEGF-Basalwerte oder des kurzfristigen Verlaufs ein Rückschluss auf den Therapieerfolg und damit auf die Überlebenszeiten getroffen werden kann.

4.4.1 VEGF-Basalwerte

In unserer Analyse zeigten die VEGF-Basalwerte im Serum vor der ersten DEBIRI deutliche Unterschiede (minimaler Wert 209,1 pg/ml, maximaler Wert 6639,0 pg/ml, Median 973,6 pg/ml, Mittelwert 2245,8 pg/ml). Der VEGF-Medianwert im Plasma von 40 gesunden Probanden in einer Studie von Hedge et al. lag zum Vergleich unterhalb des minimalen Messbereichs von 12,5 pg/ml und die maximalen Werte unterhalb von 49 pg/ml (Hedge et al, 2012). Allerdings sind diese Werte nicht vergleichbar. George et al. haben in einer Untersuchung bei 116 Patienten mit CRC und 116 Kontrollpatienten mit benigner Kolonerkrankung VEGF-Serum- und –Plasmaspiegel gemessen. 35% der Karzinompatienten hatten einen VEGF-Plasmaspiegel unterhalb der Nachweisgrenze des ELISAs von 9 pg/ml mit einem Median von 18,5 pg/ml, während 65% der Patienten mit benigner Erkrankung unterhalb der Nachweisgrenze lagen (Median 9 pg/ml) (George et al., 2000). Die VEGF-Serumwerte dieser beiden Gruppen lagen deutlich höher (George et al., 2000). Die CRC-Patienten hatten einen Medianwert von 327 pg/ml, die zweite Gruppe von 151,5 pg/ml (George et al., 2000). Der Grund hierfür liegt vermutlich in der Anwesenheit von Thrombozyten im Blutserum, in deren Granula VEGF gespeichert wird, welches dann bei der Zentrifugation der Serumröhrchen freigesetzt wird (George et al., 2000). Die Höhe der Plasma- und Serumwerte korrelierten miteinander, also hatten Patienten mit hohen Plasmaspiegeln auch hohe Serumspiegel und umgekehrt (George et al., 2000). Bei den CRC-Patienten korrelierte außerdem die Höhe beider Werte mit der Thrombozytenzahl (George et al., 2000). Weiterhin zeigten höhere CRC-Stadien auch höhere VEGF-Werte (George et al., 2000). Um eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Studien zu ermöglichen, empfahlen die Autoren, den Serum-VEGF-Wert bezogen auf die Thrombozytenzahl anzugeben (VEGF-Serumwert/Thrombozytenzahl) (George et al., 2000). Der Plasma-VEGF-Wert ist zu häufig unterhalb der Nachweisgrenze der aktuellen Testverfahren, so dass sich dieser laut den Autoren nicht gut zur Messung eignet, obwohl gemutmaßt wird, dass dieses besser das zirkulierende VEGF widerspiegelt als die Messung im Serum, da letztere zusätzlich das in den Thrombozyten gespeicherte VEGF enthält (George et al., 2000). Da aber die von den Autoren empfohlene Vorgehensweise in vielen Studien nicht verwendet wurde,

verzichteten auch wir auf eine Korrelation mit der Plättchenzahl. Zudem erscheint es naheliegend, dass die Thrombozyten zwar als Speicher fungieren, dass aber VEGF physiologisch auch aus den Plättchen am Ort der Notwendigkeit (z.B. Wundheilung) ausgeschüttet wird, so dass diese Speicher zum angiogenen Potential beitragen, und dieses vermutlich auch in der pathologischen Situation passiert, also am Tumor (George et al., 2000).

Jürgensmeier et al. haben retrospektiv prätherapeutische VEGF-Plasmaspiegel bei mehr als 2000 therapienaiven Patienten mit metastasiertem kolorektalem Karzinom (HORIZON II- und HORIZON III-Studie) gemessen. Es zeigte sich ein medianer VEGF-Plasmaspiegel von 98 pg/ml. Der untere und obere Quartilwert lag bei 49 und 209 pg/ml (Jürgensmeier et al., 2013).

Legt man die Daten von George et al. zugrunde und teilt die Medianwerte (Serum-VEGF/Plasma-VEGF) der beiden Gruppen jeweils, um einen Multiplikationsfaktor zu erhalten, zeigt sich dieser bei ca. 17. Dies ist zwar nicht evaluiert, schafft aber zur Abschätzung der Höhe unserer Werte eine ungefähre Vergleichbarkeit mit denen von Jürgensmeier.

Teilt man also unsere Werte durch 17, um diese vergleichbar zu machen, zeigt sich bei uns ein Medianwert von 57,3 pg/ml mit einem unteren Quartilwert von 29,9 pg/ml und einem oberen von 241,5 pg/ml. Somit liegen unser Median- und unterer Quartilwert unterhalb derer von Jürgensmeier (98 pg/ml und 49 pg/ml), der obere Quartilwert aber leicht oberhalb (209 pg/ml). Der Unterschied könnte dadurch zustande kommen, dass unsere Patienten mehrfach vortherapiert waren, während in den HORIZON-Studien therapienaive Patienten untersucht wurden. So könnten unsere Werte bedeuten, dass nach mehreren Vortherapien, die VEGF-Werte niedriger sind, als bei nicht-therapierten Patienten. Wie oben beschrieben, zeigten bei unseren Patienten vor allem diejenigen ohne oder mit länger zurückliegender Bevacizumabvortherapie niedrige VEGF-Werte. Dies könnte bedeuten, dass VEGF bei vorbehandelten Patienten eine nicht mehr so große Rolle für die Tumorprogression spielt, wie bei unbehandelten. Insbesondere Patienten mit Applikation des VEGF-Antikörpers in den letzten Wochen vor der Chemoembolisation zeigten die hohen Werte in unserer Untersuchung. Dies wäre als kompensatorische Reaktion des Tumors auf die VEGF-Hemmung nachvollziehbar.

Letztere Hypothese wird durch eine japanische Untersuchung gestützt, die keinen Unterschied in der VEGF-mRNA-Expression von resezierten kolorektalen Lebermetastasen bei Patienten mit und ohne präoperativer Chemotherapie zeigte (Baba et al., 2015). Es wurden im Median 8 Zyklen einer oxaliplatinhaltigen Kombinationschemotherapie mit oder ohne Bevacizumab verabreicht (Baba et al., 2015). Die Patienten denen aber zusätzlich Bevacizumab zu der Chemotherapie appliziert wurde, zeigten eine deutliche Erhöhung der VEGF-mRNA-Expression (Baba et al., 2015). Dies

entsprach durchaus unseren Beobachtungen. Patienten mit einer Bevacizumabvortherapie hatten bei uns im Median einen Serum-Basalwert von 3296 pg/ml, während Patienten ohne diese Vortherapie bei 585 pg/ml lagen. Teilt man die Bevacizumabgruppe weiter auf, so lag der Medianwert der Patienten, die den Antikörper zuletzt vor mehr als 5 Wochen erhielten, bei 518 pg/ml. Die Gruppe, bei der Bevacizumab innerhalb der letzten 5 Wochen noch appliziert wurde, hatte einen Medianwert von 4863 pg/ml. Zu den möglichen Zusammenhängen mit Bevacizumab werde ich weiter unten nochmals eingehen (Kap. 4.4.3). Die Chemotherapie alleine hatte allerdings in der Untersuchung von Baba et al. keinen Einfluss auf die VEGF-Expression.

Wie bereits oben erwähnt (Kap. 1.3.3), konnten Varey et al. im Tierversuch zeigen, dass vor allem proangiogene VEGF-splice-Varianten in den kolorektalen Tumorzellen ansteigen und somit die antiangiogenen Varianten relativ zurückgehen (Varey et al., 2008). Zhao et al. haben die VEGF-mRNA im resezierten Tumorgewebe und im mitresezierten Normalgewebe bei 40 Patienten ohne präoperative Therapie gemessen. 6 Patienten hatten simultane Leberfiliae, welche mitreseziert wurden (Zhao et al., 2015). Hier zeigte sich eine deutlich erhöhte Expression von VEGF-A165a/b im Tumorgewebe gegenüber dem nicht befallenen Gewebe, während VEGF-A121a/b in beiden Kompartimenten etwa in gleicher Konzentration vorkam (Zhao et al., 2015). Die weitere Differenzierung zeigte dann, dass VEGF-A165b im Tumor signifikant niedriger exprimiert wurde als in der Darmschleimhaut und somit eine deutliche Erhöhung von VEGF-A165a, also der proangiogenen Variante, vorlag (Zhao et al., 2015). Die Expression von VEGF-A und seinen splice-Varianten war aber nicht signifikant assoziiert mit der Tumordinfiltration, dem Lymphknotenbefall oder dem TNM-Stadium (Zhao et al., 2015). Kopetz et al. konnten hingegen bei 40 therapienaiven Patienten mit metastasierten kolorektalen Karzinomen einen direkten Zusammenhang zwischen VEGF-Basalwerten und Tumolvolumen aufzeigen (Kopetz et al., 2010). Zwei Gründe könnten für den Unterschied in den Untersuchungen von Kopetz und Zhao verantwortlich sein. Zum einen waren in der Studie von Kopetz alle Patienten metastasiert, während dies bei Zhao nur ca. 15% waren. Zum anderen hat Zhao die VEGF-mRNA im Tumorgewebe und Kopetz den VEGF-A-Plasmaspiegel gemessen, wobei letztere aber auch abhängig von der mRNA-Bildung im Tumor sein müsste. Letztlich ist aber unklar, ob diese Werte vergleichbar sind.

In unserer Untersuchung konnte keine Korrelation zwischen VEGF-Basalwerten und der Größe (größer/kleiner 5 cm, $p=0,4120$) oder der Anzahl der Lebermetastasen (<3, 3-10, >10, $p=0,8014$) hergestellt werden. Dies mag damit zusammenhängen, dass wir nicht das Volumen berechneten und Anzahl und Größe jeweils für sich genommen, nicht mit der Gesamttumorlast korrelieren müssen, denn es können natürlich wenige große Metastasen mit einem großen Gesamtvolumen vorhanden sein, als auch viele kleine mit einem geringeren Gesamtvolumen.

Es zeigte sich aber ein Zusammenhang zwischen VEGF-Basalwerten und der Überlebenszeit der Patienten. Dies wird ausführlicher in Kapitel 4.4.5 behandelt.

4.4.2 VEGF-Verlauf

Bei der Betrachtung der VEGF-Spiegel im Verlauf der ersten 3 Therapiewochen zeigten etwa die Hälfte unserer Patienten ansteigende Werte, während die andere Hälfte abfallende Werte aufwies. Hierbei setzte sich der initiale Trend nach 1 Woche auch zu den letzten beiden Messzeitpunkten fort. Nach einer Therapie mit Drug-Eluting Beads, welche die tumorversorgenden Gefäße verschließt und somit eine Ischämie erzeugt, hatten wir eigentlich mit durchgehend ansteigenden Werten gerechnet, welche sich allenfalls durch die Höhe des Anstiegs unterscheiden würden, da der antiangiogene Reiz eine Ausschüttung proangiogener Faktoren wie z.B. VEGF herbeiführen sollte.

Anhand der Literatur zu VEGF-Verläufen beim **Leberzellkarzinom** unter einer regionalen Tumorthherapie wäre dies zu erwarten gewesen. So haben Suzuki et al. bereits 1999 den VEGF-Verlauf bei 38 Patienten mit einem hepatozellulärem Karzinom untersucht, welche mit transarterieller Embolisation (TAE) behandelt wurden. Hierbei wurde VEGF vor TAE, sowie 1, 3 und 7 Tage nach der Embolisation im Serum bestimmt, wobei ein kontinuierlicher Anstieg mit einem Maximum nach 7 Tagen festgestellt wurde (Suzuki et al., 1999). Auch Shim et al. untersuchten den VEGF-Verlauf beim hepatozellulären Karzinom. Bei 147 Patienten wurde der Serum-VEGF-Wert vor einer TACE mit Doxorubicin und Lipiodol, sowie 1-2 Tage und 1 Monat nach der Therapie bestimmt (Shim et al., 2008). Es zeigte sich bei allen Patienten ein Anstieg der VEGF-Werte nach TACE, welche nach einem Monat wieder auf den Ausgangswert zurückgefallen waren (Shim et al., 2008). Bei der Behandlung mit Doxorubicin-beladenen DC-Beads®, konnte bei 71 HCC-Patienten ebenfalls ein signifikanter Anstieg der VEGF-Serumspiegel nach der Therapie gemessen werden (Ranieri et al., 2015). Es zeigte sich ein mittlerer VEGF-Ausgangswert von ca. 114 pg/ml, der nach der Behandlung auf ca. 238 pg/ml im Mittel anstieg (Ranieri et al., 2015).

Bei unseren Patienten, welche ansteigende VEGF-Spiegel eine Woche nach der ersten DEBIRI aufwiesen, hatten ca. 80% einen VEGF-Basalwert unterhalb des Medians, umgekehrt hatten ca. 85% der Patienten mit fallenden Werten einen Basalwert oberhalb des Medians. Hier konnte ein Zusammenhang mit einer Bevacizumabvorthherapie gesehen werden. Patienten ohne eine Vorbehandlung mit dem Antikörper hatten im Median einen Anstieg der VEGF-Werte um 326,1 pg/ml, während die Patienten mit einer Vorbehandlung einen medianen Abfall um 269,3 pg/ml aufwiesen und hier die Untergruppe mit Vorbehandlung innerhalb der letzten 5 Wochen sogar

einen Abfall um 823,9 pg/ml zeigten. Hier könnte eventuell eine Bevacizumabresistenz ursächlich sein. Zu genaueren Überlegungen diesbezüglich verweise ich auf die folgenden Abschnitte (Kap. 4.4.3 und 4.4.4).

4.4.3 VEGF und Vorbehandlung mit Bevacizumab

Bei unseren Daten fiel auf, dass eine Vortherapie mit Bevacizumab Einfluss auf die Höhe des VEGF-Serum-Basalwertes hatte. Der mediane Basalwert nach Bevacizumabvortherapie war deutlich höher als bei Patienten, die den VEGF-Antikörper nie erhalten hatten (3296 pg/ml vs. 585 pg/ml). Dennoch war zu erkennen, dass diese hohen Werte nicht bei allen Patienten mit dieser Vortherapie vorhanden waren, so dass wir die Dauer seit der letzten Antikörpergabe mit einbezogen. Hier stellte sich heraus, dass es nach ca. 5 Wochen nach der letzten Infusion zu einem Abfall der VEGF-Basalwerte im Median kam. Patienten deren letzte Gabe innerhalb der letzten 5 Wochen vor erster DEBIRI lag, hatten im Median einen deutlich höheren Basalwert, als Patienten, deren letzte Gabe länger als 5 Wochen zurücklag (4863 pg/ml vs. 518 pg/ml). Dieser Zusammenhang war auch dadurch erkennbar, dass alle Patienten mit einem VEGF-Basalwert unterhalb des Medians nie Bevacizumab erhalten hatten oder deren letzte Gabe mehr als 5 Wochen zurücklag. Alle Patienten, die innerhalb der letzten 5 Wochen Bevacizumab erhalten hatten, zeigten umgekehrt einen VEGF-Basalwert oberhalb des Medians. Wie bereits erwähnt, könnte dies als Kompensation des Tumors auf die Antikörpertherapie gewertet werden.

Auch bei den VEGF-Verläufen eine Woche nach der ersten DEBIRI konnte ein Bezug zur Bevacizumabvortherapie hergestellt werden. Im Median hatte die Gruppe ohne diese Vortherapie einen VEGF-Anstieg zur ersten Messung 1 Woche nach der ersten DEBIRI um 326 pg/ml. Die Gruppe, deren letzte Bevacizumabgabe mehr als 5 Wochen zurücklag, hatte im Median einen Anstieg um 48 pg/ml, und die Gruppe, die in den letzten 5 Wochen den Antikörper noch erhalten hatte, fiel mit dem VEGF-Wert um 824 pg/ml im Median ab.

Somit hatten Patienten mit einer Bevacizumabvortherapie innerhalb der letzten Wochen neben einem deutlich höheren VEGF-Basalwert, im Verlauf nach DEBIRI auch einen deutlicheren Abfall. Hierbei könnte auch unsere Messmethode für VEGF eine Rolle gespielt haben.

Starlinger et al. haben in einer Studie mit Patienten mit hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom, welche nach im Median 6 Zyklen einer präoperativen Kombinationschemotherapie plus Bevacizumab einer kurativ intentionierten Operation unterzogen wurden, perioperativ den VEGF-Spiegel gemessen. Hierbei wurde jeweils einen Tag vor und an den ersten drei Tagen nach OP der

VEGF-Spiegel im Plasma, sowie postoperativ (Tag 1 – 3) in den subkutanen und intraabdominellen Wundsekreten bestimmt (Starlinger et al., 2012). Der Test hat sowohl das freie als auch das an Bevacizumab gebundene VEGF gemessen (Starlinger et al., 2012). Bevacizumab war im Median 6 Wochen (4 – 8 Wochen) vor der Operation abgesetzt worden (Starlinger et al., 2012). Verglichen wurden die Werte mit einer Kontrollgruppe, die eine Kombinationschemotherapie ohne Bevacizumab erhielt (Starlinger et al., 2012). VEGF war in der Gruppe, die den Antikörper erhalten hatte, sowohl prä-, als auch postoperativ im Plasma um das 5-fache erhöht, verglichen mit der Kontrollgruppe (Starlinger et al., 2012). In den postoperativen Wundsekreten war VEGF hingegen signifikant vermindert gegenüber den Plasmaspiegeln (Starlinger et al., 2012). Wenn die Immunglobuline einschließlich des Bevacizumab/VEGF-Komplexes mittels eines Immunpräzipitationsverfahrens aus den Proben entfernt wurden, so dass nur noch das freie und damit wirksame VEGF zurückblieb, war das ungebundene VEGF im Plasma bei den mit Bevacizumab vorbehandelten Patienten gleich hoch oder sogar niedriger, als in der Kontrollgruppe (Starlinger et al., 2012). Die in den Wundsekreten gemessenen VEGF-Konzentrationen waren in der antiangiogen vorbehandelten Gruppe in etwa gleicher Höhe wie im Plasma nachweisbar und auch dort in ganz überwiegend gebundener Form, während in den Wundsekreten der Patienten, die eine alleinige Chemotherapie erhalten hatten, die VEGF-Spiegel in bis zu 70-fach höherer Konzentration messbar waren, als in deren Plasma (Starlinger et al., 2012). Die Autoren schlossen daraus, dass auch 6 Wochen nach Absetzen von Bevacizumab, der Antikörper noch effektiv wirksam ist. Trotzdem kam es bei diesen Patienten nicht zu einer schlechteren Wundheilungsrate (Starlinger et al., 2012). Daraus folgerten die Autoren, dass VEGF entweder für die Wundheilung eine untergeordnete Rolle spielt oder es über einen Resistenzmechanismus zu einer erhöhten Ausschüttung anderer proangiogener Stoffe, wie z.B. FGF kommen muss (Starlinger et al., 2012). Aus meiner Sicht ist dies ein Hinweis darauf, dass unter VEGF-Hemmung mit Bevacizumab bereits eine Umstellung der Körperzellen auf andere proangiogene Faktoren erfolgt ist und deshalb auch nach dem angiogenen Reiz der Operation kein VEGF-Anstieg in den Wundsekreten messbar war, obwohl dies für die Wundheilung erforderlich sein müsste. Da Bevacizumab nicht weiter appliziert wurde und die Wundheilung nicht mehr relevant eingeschränkt war, muss die Revaskularisation im OP-Gebiet über andere Mechanismen vorangetrieben worden sein. Dass diese Umstellung auch für Tumorzellen wahrscheinlich ist, zeigen andere Untersuchungen, auf die im nächsten Kapitel (Kap. 4.4.4) weiter eingegangen wird.

Der ELISA zur VEGF-Messung in unserer Untersuchung war nicht darauf evaluiert, ob nur das freie oder auch das an Bevacizumab gebundene VEGF gemessen wurde. Es ist aber wahrscheinlich, dass wir die Komplexe mitgemessen haben, da die Tests sich nicht grundlegend unterscheiden.

Dementsprechend wären die hohen VEGF-Werte in der Gruppe mit kurz zurückliegender Antikörpertherapie nicht als Kompensation zu werten, sondern könnten darauf zurückzuführen sein, dass hier zu einem großen Teil die VEGF/Antikörperkomplexe gemessen wurden. Passend dazu wäre auch der Abfall der Werte im Verlauf bei dieser Patientengruppe erklärbar, wenn man davon ausgeht, dass die Komplexe mit der Zeit abgebaut werden. Wenn die hohen VEGF-Basalwerte als Kompensationsmechanismus des Tumors zu sehen wären, hätte trotzdem ein Anstieg der Werte im Verlauf nach Embolisation die Folge sein müssen. Dies würde bedeuten, dass bei den Patienten mit Bevacizumab-Vortherapie, zwar erhöhte Gesamt-VEGF-Werte vorlagen, das freie VEGF aber evtl. gar nicht erhöht war. Mit den Beobachtungen von Starlinger et al. wäre dies vereinbar. Grund dafür könnte die Ausbildung einer Bevacizumabresistenz sein, bei der vom Tumor andere proangiogene Faktoren anstatt VEGF ausgeschüttet werden.

4.4.4 Bevacizumabresistenz

Ellis und Hicklin haben bereits 2008 in einem Review vor allem präklinische Daten zu diesem Thema zusammengefasst und damit einige mögliche alternative Wege aufgezeigt, durch die ein Tumor seine Vaskularisation unter VEGF-Inhibition vorantreiben kann. So konnte nachgewiesen werden, dass es im Tierversuch nach ca. 4 Wochen einer anti-VEGF-Rezeptor-2-Therapie zu einem Anstieg von FGF (fibroblast growth factor) kam, wodurch ein erneutes Tumorwachstum induziert wurde (Ellis & Hicklin, 2008). Weiterhin konnte in dieser Situation durch Hinzunahme einer gegen FGF gerichteten Therapie eine erneute Tumorreduktion hervorgerufen werden (Ellis & Hicklin, 2008). PlGF (placental growth factor) gehört zur VEGF-Familie und trägt über eine positive Beeinflussung des perivaskulären Stromas zur Angiogenese bei, indem es unter seinem Einfluss zu einem vermehrten Makrophageneinstrom kommt, welche wiederum andere proangiogene Mediatoren freisetzen können (Ellis & Hicklin, 2008). Es konnte nachgewiesen werden, dass PlGF unter VEGF-Inhibition im Plasma ansteigt (Ellis & Hicklin, 2008).

Kopetz et al. haben bei 43 Patienten vor und während einer Erstlinientherapie mit FOLFIRI und Bevacizumab, sowie bei Nachweis einer progredienten Erkrankung, verschiedene Zytokine und angiogene Faktoren im Plasma gemessen. Es wurde zunächst einmalig Bevacizumab appliziert und nach 14 Tagen begann die kombinierte Antikörper-Chemotherapie in einem 14-tägigen Zyklus (Kopetz et al., 2010). Die Blutabnahme erfolgte vor jedem Therapiezyklus und zum Zeitpunkt der radiologisch nachgewiesenen Tumorprogression (Kopetz et al., 2010). Die Therapie wurde bis zum Progress, dem Auftreten von inakzeptablen Nebenwirkungen oder dem Wunsch des Patienten zum Therapieabbruch fortgeführt (Kopetz et al., 2010). Die Basalwerte von VEGF und des löslichen

VEGFR-2 zeigten keinen Zusammenhang mit dem PFS oder dem OS (Kopetz et al., 2010). Der VEGF-Basalwert zeigte aber einen Zusammenhang mit dem Tumolvolumen (Kopetz et al., 2010). Nach der einmaligen Antikörpergabe kam es u.a. zu einem Anstieg von PlGF und dem löslichen VEGF-Rezeptor-2 (Kopetz et al., 2010). Dieser Anstieg setzte sich nach der ersten Kombinationschemotherapie fort (Kopetz et al., 2010). Es wurde anschließend das Verhalten der Faktoren zum Zeitpunkt der radiologischen Progression mit den letzten Werten davor verglichen, in der Annahme, dass die proangiogenen Faktoren bereits zu diesem Zeitpunkt einen Anstieg aufwiesen (Kopetz et al., 2010). In der letzten Blutabnahme vor dem nachgewiesenen Progress zeigte sich eine Erhöhung von FGF (fibroblast growth factor), PlGF, PDGF (platelet derived growth factor) und HGF (hepatocyte growth factor) (Kopetz et al., 2010). Zum Zeitpunkt der radiologischen Untersuchung waren FGF und PDGF weiter angestiegen, während PlGF und HGF wieder abgefallen waren (Kopetz et al., 2010). Der lösliche VEGFR-2 fiel zum Zeitpunkt der radiologischen Progression unter den Basalwert ab (Kopetz et al., 2010). Dieser ist als endothelständiger Rezeptor Hauptangriffspunkt von VEGF-A und löst bei Aktivierung den stärksten Angiogenesereiz aus (Kopetz et al., 2010). Der dargestellte Verlauf verschiedener proangiogener Faktoren spricht dafür, dass unter einer VEGF-Inhibition durch Bevacizumab verstärkt andere proangiogene Wege vom Tumor genutzt werden.

PlGF war bei Kopetz zum letzten Zeitpunkt vor der Progression angestiegen und zum Zeitpunkt der radiologischen Progression wieder abgefallen (Kopetz et al., 2010). PlGF wirkt über den VEGFR-1 und stimuliert neben den Endothelzellen die Makrophagen- und Stromazellmigration, sowie die Revaskularisation in ischämischen Geweben (Fischer et al., 2007). PlGF ist in Tumorzellen nach VEGF-Blockade hochreguliert und fördert die Tumorangiogenese auch über den Einstrom tumorassoziierter Makrophagen, deren Anstieg mit Tumorwachstum und einer erhöhten Metastasierungsrate assoziiert ist (Fischer et al., 2007, Ellis & Hicklin, 2008). Es konnte im Tierversuch gezeigt werden, dass ein PlGF-Antikörper die Tumorangiogenese sowohl in VEGF-sensitiven, als auch in VEGF-resistenten Tumoren inhibiert, was nahelegt, dass die durch die Makrophagen ausgeschütteten proangiogenen Faktoren auch andere als VEGF sein müssen (Fischer et al., 2007). In einem anderen Tierversuch mit kolorektalen Tumoren konnte gezeigt werden, dass in einigen Tumoren neben VEGF-A und VEGFR-2, auch VEGFR-1 und PlGF hochexprimiert sind (Chiron et al, 2014). Bei diesen wurde die Wirksamkeit von Aflibercept, das VEGF A und B, sowie PlGF bindet, und Bevacizumab, das nur VEGF A bindet, verglichen (Chiron et al, 2014). Während in den Tumoren mit vorwiegender VEGFR-2 und VEGF A Expression beide Medikamente gleich wirksam waren, konnte in denen mit zusätzlicher VEGFR-1 und PlGF Überexpression, Aflibercept eine statistisch signifikant bessere Tumorreduktion hervorrufen als

Bevacizumab (Chiron et al, 2014). Dies lässt darauf schließen, dass PlGF das Tumorwachstum bzw. die intratumorale Angiogenese unabhängig von VEGF beeinflusst und somit ein alternativer Angiogenesestimulator im Tumor sein kann, insbesondere bei alleiniger anti-VEGF-A-Therapie.

Auch HGF stieg zunächst zum letzten Zeitpunkt vor der Progression an, um dann zum Zeitpunkt der Progression wieder abzufallen (Kopetz et al., 2010). HGF bewirkt eine Zellproliferation und fördert das Überleben der Zellen (Huang et al, 2017) Im Tumor fördert es zusätzlich die Invasion und Metastasierung der malignen Zellen (Huang et al., 2017). HGF steigert die Angiogenese über eine Stimulation der VEGF- und IL-8-Expression und durch Inhibition antiangiogener Faktoren (Kopetz et al., 2010).

FGF war bei Kopetz zum Zeitpunkt der Progression ansteigend (Kopetz et al., 2010). Diese Zytokinfamilie besteht aus 5 Rezeptoren (FGFR 1-5) und 22 Liganden (FGF 1-22) und kann das Tumorwachstum und die Angiogenese im Zusammenspiel mit VEGF, aber auch unabhängig von VEGF stimulieren (Khan et al., 2015). In einem Tierversuch konnte nach erfolgreicher VEGFR-2-Inhibition ein Anstieg u.a. von verschiedenen Zytokinen aus der FGF-Familie nachgewiesen werden (Casanova et al., 2005). Neben einem erneuten Tumorwachstum konnte auch wieder eine gesteigerte Angiogenese in den Präparaten gesehen werden (Casanova et al., 2005). Unter einer zusätzlichen Behandlung mit einem FGF-Antikörper waren aber wieder ein Regress des Tumors und auch ein erneuter Rückgang des intratumoralen Gefäßsystems nachweisbar. (Casanova et al., 2005)

PDGF war bei Kopetz ebenfalls zum Zeitpunkt der Progression weiter angestiegen (Kopetz et al., 2010). Es existieren 5 PDGF-Liganden und 2 Rezeptoren (Khan et al., 2015). PDGF führt zu Wachstum und Stabilisierung der Gefäße (Khan et al., 2015). Über diesen Weg kann z.B. die Migration und Proliferation von Perizyten stimuliert werden, was die Gefäßarchitektur und damit die Durchblutung verbessert (Ellis & Hicklin, 2008). Damit unterstützt PDGF auch die VEGF-Wirkung, indem durch das Zusammenspiel effektivere Tumorgefäße gebildet werden (Ellis & Hicklin, 2008). Weiterhin wird durch PDGF die Sekretion von FGF angeregt und darüber wiederum die VEGF-unabhängige Angiogenese (Ellis & Hicklin, 2008).

Es wurden bereits weit über 40 proangiogene Zytokine gefunden, die allein oder in Kombination die Angiogenese antreiben können (Kieran et al., 2012). Auch in der Studie von Kopetz et al. konnte zum Zeitpunkt der Progression und davor ein Anstieg weiterer Zytokine gesehen werden, die sowohl direkt bei der Angiogenese, als auch indirekt über z.B. Stimulation der Einwanderung und Zelldifferenzierung myeloischer und monozytärer Zellen eine Rolle spielen (Kopetz et al., 2010). Diese sind wichtig für die Differenzierung des umgebenden Gewebes und damit für die

Stabilisierung der neugebildeten Gefäße (Kopetz et al., 2010; Kieran et al., 2012, Ellis & Hicklin, 2008). Zusätzlich enthalten z.B. die Granula eosinophiler Granulozyten, deren Migration ebenso stimuliert wird, proangiogenetische Faktoren, wie z.B. VEGF und FGF. (Kopetz et al., 2010; Kieran et al., 2012, Ellis & Hicklin, 2008)

All dies weist darauf hin, dass unter VEGF-Inhibition die Stimulation der Angiogenese durch andere Faktoren in den Vordergrund rückt, die vorher nur eine untergeordnete Rolle gegenüber VEGF-A gespielt haben. Dadurch wird die Blutversorgung des Tumors trotz fehlender Stimulation mittels VEGF gewährleistet, was wiederum zu seinem Wachstum führt. Da diese Faktoren aber neben den Endothelzellen auch das peritumorale Stroma zusätzlich zur Proliferation anregt, könnte die Konsequenz ein Schutz der Tumorzellen durch Stromazellen vor der Therapiewirkung sein. Auch hierdurch wäre das schlechtere Überleben der Patienten insbesondere nach kurzfristig zurückliegender Bevacizumabtherapie in unserer Untersuchung erklärbar.

4.4.5 VEGF als prognostischer bzw. prädiktiver Faktor

Die Unterteilung der Gruppen in Patienten mit VEGF-Basalwerten ober- und unterhalb des Medians von 973,6 pg/ml (high- und low-VEGF-Gruppe) zeigte in unserer Analyse, dass die low-VEGF-Gruppe ein statistisch signifikant besseres Gesamtüberleben hatte, als die high-VEGF-Gruppe (51,4 vs. 26,7 Wochen), womit ein hoher VEGF-Basalwert ein prognostisch ungünstiger Faktor war.

Niizeki et al. zeigten beim **Leberzellkarzinom**, dass ein hoher prätherapeutischer Serum-VEGF-Wert (>100 pg/ml) vor einer regionalen Chemotherapie, ein schlechteres radiologisches Ansprechen und ein schlechteres Gesamtüberleben vorhersagt (Niizeki et al., 2012). Auch in der HORIZON II- und III-Studie prognostizierten prätherapeutische Plasma-VEGF-Spiegel oberhalb des Medianwertes ein schlechteres progressionsfreies und auch Gesamtüberleben beim metastasierten kolorektalem Karzinom (Jürgensmeier et al., 2013). In der AVF 2107-Studie konnten 384 Patienten mit metastasierten, nicht vorbehandelten kolorektalen Karzinomen retrospektiv für ihre VEGF-Plasmaspiegel ausgewertet werden (Hedge et al, 2012). Es war ebenfalls ein schlechteres PFS und OS für die Patienten nachweisbar, die oberhalb des medianen Wertes von 44 pg/ml lagen (Hedge et al, 2012).

Entsprechend der Überlebensdaten bei den VEGF-Basalwerten konnte in unserer Untersuchung auch bezogen auf die Bevacizumabvorbehandlung ein statistisch signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben gesehen werden. Bildete man die bereits oben beschriebenen 3 Gruppen, so

zeigte sich für die Patienten mit einer Bevacizumabvorbehandlung innerhalb der letzten 5 Wochen ein Gesamtüberleben von 26,7 Wochen. Für die Patienten, die Bevacizumab vor mehr als 5 Wochen zuletzt erhielten, zeigte sich ein OS von 30,9 Wochen. Patienten ohne Bevacizumabvorbehandlung wiesen ein Gesamtüberleben von 54,1 Wochen auf. Also zeigte die Vortherapie mit Bevacizumab in unserer Beobachtung ein schlechteres Gesamtüberleben an und dies insbesondere dann, wenn der Antikörper in den letzten Wochen vor der regionalen Therapie noch verabreicht wurde, so dass auch diese Vorbehandlung als negativer prognostischer Faktor anzusehen ist.

So waren sowohl ein hoher VEGF-Basalwert, als auch eine Vorbehandlung mit dem VEGF-Antikörper Bevacizumab in unserer Untersuchung negative prognostische Faktoren. Wie oben dargelegt, hatten alle Patienten mit einer kurz zurückliegenden Bevacizumabvorbehandlung hohe VEGF-Basalwerte, so dass hier scheinbar ein direkter Zusammenhang besteht. Allerdings waren in der Gruppe mit hohen Basalwerten auch einige wenige Patienten ohne oder mit länger zurückliegender anti-VEGF-Therapie, die ebenfalls ein schlechteres medianes Gesamtüberleben aufwiesen. Umgekehrt wies auch die Gruppe mit einer Bevacizumabtherapie, die länger als 5 Wochen zurücklag und gleichzeitig überwiegend niedrige VEGF-Basalwerte zeigte, ein schlechteres medianes Überleben auf. So scheinen diese beiden Parameter auch unabhängig voneinander negativ prognostisch zu sein.

Nach 4 Wochen war in unserer radiologischen Auswertung nach mRECIST eine statistische Signifikanz bei Korrelation mit den VEGF-Werten zu erkennen ($p=0.0120$). Hohe Ausgangswerte zeigten eine höhere Chance auf Krankheitskontrolle an (Ansprechen oder Stabilisierung). Dies setzte sich im weiteren Verlauf nicht fort und widersprach vor allem den Überlebenszeiten der Patienten, welche bei niedrigen Basalwerten deutlich besser waren. In den weiteren radiologischen Auswertungen nach 4 und 12 Wochen nach RECIST und mRECIST ergab sich keine statistische Signifikanz bei Korrelation des Ansprechens mit den VEGF-Basalwerten. Somit konnten wir für die VEGF-Basalwerte keinen prädiktiven Charakter aufzeigen. Dies entspricht den Daten aus den Auswertungen von Jürgensmeier und Hedge, die ebenfalls eine prognostische, aber keine prädiktive Aussagekraft für prätherapeutische VEGF-Werte herausarbeiten konnten (Hedge et al., 2012, Jürgensmeier et al., 2013).

In der HORIZON-II-Studie wurde FOLFOX bzw. XELOX als Erstlinientherapie verabreicht, im experimentellen Arm mit Cediranib, einem Tyrosinkinaseinhibitor mit Aktivität gegen alle 3 VEGF-Rezeptoren, im Standardarm mit Placebo (Jürgensmeier et al., 2013). Die HORIZON-III-Studie verglich FOLFOX und Cediranib mit FOLFOX und Bevacizumab (Jürgensmeier et al., 2013). In

beiden Studien zeigte sich in allen Gruppen ein schlechteres PFS und OS bei hohen VEGF-Basalwerten, sowohl bei alleiniger Chemotherapie, als auch bei einer VEGF-Inhibition mit den unterschiedlichen Medikamenten (Jürgensmeier et al., 2013). Somit konnte auch hier ein hoher VEGF-Basalwert nicht das Therapieansprechen der antiangiogenen Medikamente vorhersagen (Jürgensmeier et al., 2013).

Eine kleine Studie von Berk et al., die die VEGF-Expression in Tumorproben von 53 Patienten vor Erstlinientherapie mit Bevacizumab und FOLFIRI oder XELOX gemessen haben, zeigte allerdings andere Ergebnisse. Eine hohe immunhistochemisch gemessene VEGF-Expression im Zytoplasma der Tumorzellen vor Therapiebeginn zeigte in dieser Studie eine bessere Krankheitskontrollrate (Ansprechen oder Stabilisierung) mit der verabreichten Therapie (62% vs. 38% Krankheitskontrolle) (Berk et al., 2015). Dies resultierte letztendlich auch in einer besseren Überlebensrate (26 vs. 15 Monate) für die Gruppe mit hoher initialer VEGF-Expression (Berk et al., 2015). Die Autoren dieser Studie schlossen auf einen prädiktiven Charakter einer initialen hohen VEGF-Expression für eine Bevacizumabtherapie (Berk et al., 2015). Allerdings wurden in dieser Studie nur wenige Patienten retrospektiv untersucht (53 Patienten), während in den HORIZON-Studien über 2000 Patienten in die Analyse eingingen.

Nimmt man die Ergebnisse dieser Studien zusammen, so scheinen hohe VEGF-Werte im Serum oder Plasma zwar ein negativer prognostischer Faktor zu sein, prädiktiv für ein Ansprechen auf eine gegen VEGF gerichtete Therapie sind sie aber offenbar nicht.

Zusammengefasst zeigten in unserer Untersuchung sowohl hohe prätherapeutische VEGF-Werte als auch eine Bevacizumabvortherapie ein schlechteres Gesamtüberleben bei unseren Patienten an. Wie in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben, ist meiner Einschätzung nach der Grund dafür, eine im Verlauf der Therapie aufgetretene Bevacizumabresistenz, die zu einer vermehrten Ausschüttung auch anderer proangiogener Faktoren führt. Diese wiederum stimulieren nicht allein die Tumorneoangiogenese, sondern auch das Wachstum des Tumorstromas, so dass daraus ein erhöhter Schutz der Tumorzellen vor der Wirkung einer Chemoembolisation entstehen könnte. Auch die Beobachtung, dass Patienten mit kurz zurückliegender anti-VEGF-Therapie im Verlauf abfallende Werte zeigten, unterstützt diese Schlussfolgerung, da in dieser Situation scheinbar VEGF nicht in relevanter Höhe nachproduziert wurde.

Patienten mit einer länger zurückliegenden Bevacizumabtherapie zeigten im Verlauf wieder ansteigende VEGF-Werte. Offenbar sezernierten die Tumorzellen dieser Patienten auch wieder VEGF als Reaktion auf die Ischämie. Ein Erklärungsansatz für das gegenüber den Bevacizumab-naiven Patienten ebenfalls schlechtere Gesamtüberleben kann darin bestehen, dass die während

der Anti-VEGF-Therapie umgestellten komplexen intratumoralen Stoffwechselforgänge noch aktiv waren, so dass auch hier andere proangiogene Faktoren eine größere Rolle spielten, als bei Patienten ohne eine vorherige Bevacizumabtherapie.

Aus unseren Analysen ziehen wir die Schlussfolgerung, dass eine Salvagetherapie mit einer Chemoembolisation ähnlich gute Überlebensdaten aufzeigt, wie andere in großen Studien geprüfte Substanzen. Man könnte sich aber vorstellen, dass diese künftig gegebenenfalls mit antiangiogenen Substanzen kombiniert werden sollte, um die Wirksamkeit zu erhöhen. Patienten die vorab nie eine antiangiogene Therapie erhalten haben, könnten begleitend z.B. mit einem VEGF-Antikörper behandelt werden, da in dieser Situation das ansteigende VEGF anscheinend der stärkste proangiogene Faktor ist. Patienten, die bereits mit Bevacizumab vorbehandelt wurden, sollten wahrscheinlich besser einen Multikinaseinhibitor erhalten, welcher verschiedene proangiogene Faktoren, wie PlGF, FGF und HGF blockieren kann, die vermutlich unter der vorhergehenden antiangiogenen Therapie hochreguliert worden sind.

5. Zusammenfassung

Das kolorektale Karzinom gehört zu den häufigsten Tumorerkrankungen der westlichen Welt und damit auch zu den häufigsten krebsbedingten Todesursachen. In der metastasierten Situation stehen verschiedene Therapieoptionen zur Verfügung. Irgendwann sind jedoch systemische medikamentöse Therapien ausgeschöpft. Viele dieser Patienten leiden ausschließlich oder dominant an einer Lebermetastasierung. In dieser Situation haben wir in unserer Studie eine Chemoembolisation der Leber mit Irinotecan-beladenen Drug-Eluting Beads durchgeführt. Die mediane Überlebenszeit der 43 behandelten Patienten lag bei 31 Wochen und zeigte damit ähnliche gute Ergebnisse wie andere Salvagetherapien.

Als Hauptfragestellung unserer prospektiven Untersuchung haben wir vor und 1 Woche nach der Therapie Serum-VEGF-Spiegel bestimmt, um zu erfahren, ob diese prädiktiv für das Ansprechen bzw. prognostisch für die Überlebenszeit der durchgeführten Salvagetherapie sind. Das Therapieansprechen wurde 4 und 12 Wochen nach der ersten Chemoembolisation überprüft. Hierbei zeigte eine Krankheitsstabilisierung nach 12 Wochen in der RECIST-Auswertung einen günstigen Krankheitsverlauf an. VEGF-Werte oder –verläufe korrelierten aber nicht mit dem Therapieansprechen und waren daher nicht prädiktiv. Hohe VEGF-Basalwerte zeigten ein schlechteres Gesamtüberleben und damit eine schlechtere Prognose an und sie korrelierten mit einer kurz zurückliegenden Therapie mit dem VEGF-Inhibitor Bevacizumab. Hingegen wiesen Patienten ohne oder mit länger zurückliegender Anti-VEGF-Therapie niedrige VEGF-Basalwerte auf. Die Überlebenszeit war in der Gruppe deutlich besser, die nicht mit Bevacizumab vorbehandelt waren. Die Prognose nach einer Chemoembolisation in der Letztlinientherapie war also signifikant schlechter für Patienten, die eine Bevacizumabtherapie vorab erhalten hatten.

Da es laut Literatur unter einer antiangiogenen Therapie mit Bevacizumab zu einem Anstieg anderer proangiogener Faktoren, wie FGF, PIGF und PDGF kommt, die zu einer Bevacizumabresistenz führen können, stellen wir die Hypothese auf, dass diese Faktoren für ein schlechteres Therapieansprechen zumindest mitverantwortlich sind. Dementsprechend erscheint es vielversprechend, mit einem Multi-Tyrosinkinaseinhibitor, welcher gegen verschiedene proangiogene Faktoren wirkt, als Kombinationspartner zu einer Chemoembolisation die Ergebnisse der alleinigen Chemoembolisation bei Patienten zu verbessern, die mit Bevacizumab vorbehandelt sind.

A Literaturverzeichnis

1. Adam, R., Hoti, E., Folprecht, G., Benson III, A.B. (2009): Accomplishments in 2008 in the Management of Curable Metastatic Colorectal Cancer. *Gastrointest Cancer Res* 3 (suppl 2), 2009, 15–22.
2. Albert, M., Kiefer, M.V., Sun, W., Haller, D., Fraker, D.L., Tuite, C.M., Stavropoulos, S.W., Mondschein, J.I., Soulen, M.C. (2011): Chemoembolization of Colorectal Liver Metastases With Cisplatin, Doxorubicin, Mitomycin C, Ethiodol, and Polyvinyl Alcohol. *Cancer* January 15, 2011, 343-352.
3. Alberts, S.R., Sargent, D.J., Nair, S., Mahoney, M.R., Mooney, M., Thibodeau, S.N., Smyrk, T.C., Sinicrope, F.A., Chan, E., Gill, S., Kahlenberg, M.S., Shields, A.F., Quesenberry, J.T., Webb, T.A., Farr Jr, G.H., Pockaj, B.A., Grothey, A., Goldberg, R.M. (2012): Effect of Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin With or Without Cetuximab on Survival Among Patients With Resected Stage III Colon Cancer: A Randomized Trial. *JAMA* 307(13), 2012, 1383–1393.
4. Aliberti, C., Fiorentini, G., Muzzio, P.C., Pommeri, F., Tilli, M., Dallara, S., Benea, G. (2011): Trans-Arterial Chemoembolization of Metastatic Colorectal Carcinoma to the Liver Adopting DC Bead®, Drug-eluting Bead Loaded with Irinotecan: Results of a Phase II Clinical Study. *Anticancer Res* 31, 2011, 4581-4588.
5. Andre, T., Boni, C., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., Topham, C., Bonetti, A., Clingan, P., Bridgewater, J., Rivera, F., de Gramont, A. (2009): Improved Overall Survival With Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin As Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial. *J Clin Oncol* 27, 2009, 3109-3116.
6. Baba, H., Baba, Y., Uemoto, S., Yoshida, K., Saiura, A., Watanabe, M., Maehara, Y., Oki, E., Ikeda, Y., Matsuda, H., Yamamoto, M., Shimada, M., Taketomi, A., Unno, M., Sugihara, K., Ogata, Y., Eguchi, S., Kitano, S., Shirouzo, K., Saiki, Y., Takamori, H., Mori, M., Hirata, T., Wakabayashi, G., Kokudo, N. (2015): Changes in expression levels of ERCC1, DPYD, and VEGFA mRNA after first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer: results of a multicenter study. *Oncotarget* Vol. 6, No. 32 2015, 34004-34013.
7. Berk, V., Deniz, K., Bozkurt, O., Ozaslan, E., Karaca, H., Inanc, M., Duran, A.O., Ozkan, M. (2015): Predictive Significance of VEGF and HIF-1 α Expression in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Receiving Chemotherapy Combinations with Bevacizumab. *Asian Pac J Cancer Prev*, 16 (14), 2015, 6149-6154.
8. Bower, M., Metzger, T., Robbins, K., Tomalty, D., Valek, V., Boudny, J., Andrasina, T., Tatum, C., Martin, R.C.G. (2010): Surgical downstaging and neo-adjuvant therapy in metastatic colorectal carcinoma with irinotecan drug-eluting beads: a multi-institutional study. *HPB* 2010, 12, 31–36; doi: 10.7314/APJCP.2015.16.14.6149.
9. Breedis, C., Young, G. (1954): The blood supply of neoplasms in the liver. *Am J Pathol*. 1954 Oct; 30(5), 969–985.

10. Bruix, J., Sherman, M., Llovet, J.M., Beaugrand, M., Lencioni, R., AJordi Bruix*Bruix, J., Sherman, M., Llovet, J.M., Beaugrand, M., Lencioni, R., Burroughs, A.K., Christensen, E., Pagliaro, L., Colombo, M., Rodes, J. (2001):
Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference.
J Hepatol 35 (2001), 421–430.
11. Casanova, O., Hicklin, D.J., Bergers, G., Hanahan, D. (2005):
Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors.
Cancer Cell Oct. 2005 Vol.8, 299-309.
12. Chapiro, J., Duran, R., Lin, MD., Scherthaner, R., Lesage, D., Wang, Z., Savic, L.J., Geschwind, J.-F. (2015):
Early survival prediction after intra-arterial therapies: a 3D quantitative MRI assessment of tumour response after TACE or radioembolization of colorectal cancer metastases to the liver.
Eur Radiol 2015, publ. online 31.01.2015, doi 10.1007/s00330-015-3595-5.
13. Chiron, M., Bagley, R.G., Pollard, J., Mankoo, P.K., Henry, C., Vincent, L., Geslin, C., Baltes, N., Bergstrom, D.A. (2014):
Differential Antitumor Activity of Aflibercept and Bevacizumab in Patient-Derived Xenograft Models of Colorectal Cancer.
Mol Cancer Ther 13(6) June 2014, 1636-1644.
14. Clark, M.E., Smith, R.R. (2014):
Liver-directed therapies in metastatic colorectal cancer.
J Gastrointest Oncol 2014,5(5), 374-387.
15. Cunningham, D., Humblet, Y., Siena, S., Khayat, D., Bleiberg, H., Santoro, A., Bets, D., Mueser, M., Harstrick, A., Verslype, C., Chau, I., Van Cutsem, E. (2004):
Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer.
N Engl J Med 351, 2004, 337-45.
16. Dreves, J. (2007)
Tumorangiogenese- Grundlagen und therapeutische Ansätze. 2. Auflage
Bremen: UNI-MED Verlag AG; s. bes. S. 12-15.
17. Eisenhauer, E.A., Therasse, P., Bogaerts, J., Schwartz, L.H., Sargent, D., Ford, R., Dancey, J., Arbuck, S., Gwyther, S., Mooney, M., Rubinstein, L., Shankar, L., Dodd, L., Kaplan, R., Lacombe, D., Verweij, J. (2009):
New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1).
Eur J Cancer 45, 2009, 228-247.
18. Ellis, L.M., Hicklin, D.J. (2008):
Pathways Mediating Resistance to Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy.
Clin Cancer Res 2008 14(20) Oct. 15, 6371-6375.
19. Eng OS, Tsang AT, Moore D, Chen C, Narayanan S, Gannon CJ, August DA, Carpizo DR, Melstrom LG. (2015):
Outcomes of microwave ablation for colorectal cancer liver metastases: a single center experience.
J Surg Oncol. 2015 Mar 15;111(4), 410-3.
20. Fachinformation Avastin®. November 2014. Download von www.fachinfo.de

21. Fachinformation Cyramza®. Januar 2016. Download von www.fachinfo.de
22. Fedorowicz Z, Lodge M, Al-asfoor A, Carter B. (2011):
Resection versus no intervention or other surgical interventions for colorectal cancer liver metastases (Review).
Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 2. Art. No.: CD006039.
doi: [10.1002/14651858.CD006039.pub4](https://doi.org/10.1002/14651858.CD006039.pub4).
23. Fiorentini, G., Aliberti, C., Mulazzani, L., Coschiera, P., Catalano, V., Rossi, D., Giordani, P., Ricci, S. (2014):
Chemoembolization in Colorectal Liver Metastases: The Rebirth.
Anticancer Res 34, 2014, 575-584.
24. Fiorentini, G., Aliberti, C., Tilli, M., Mulazzani, L., Graziano, F., Giordani, P., Mambrini, A., Montagnani, F., Alessandrini, P., Catalano, V., Coschiera, P. (2012):
Intra-arterial Infusion of Irinotecan-loaded Drug-eluting Beads (DEBIRI) versus Intravenous Therapy (FOLFIRI) for Hepatic Metastases from Colorectal Cancer: Final Results of a Phase III Study.
Anticancer Res 32, 2012, 1387-1396.
25. Fischer, C., Jonckx, B., Mazzone, M., Zacchigna, S., Loges, S., Pattarini, L., Chorianopoulos, E., Liesenborghs, L., Koch, M., De Mol, M., Autiero, M., Wyns, S., Plaisance, S., Moons, L., van Rooijen, N., Giacca, M., Stassen, J.-M., Dewerchin, M., Collen, D. (2007):
Anti-PIGF Inhibits Growth of VEGF(R)-Inhibitor-Resistant Tumors without Affecting Healthy Vessels.
Cell 131, 2007, 463–475.
26. Folprecht, G., Gruenberger, T., Bechstein, W., Raab, H.R., Weitz, J., Lordick, F., Hartmann, J. T., Stoecklacher-Williams, J., Lang, H., Trarbach, T., Liersch, T., Ockert, D., Jaeger, D., Steger, U., Suedhoff, T., Rentsch, A. Köhne, C.H. (2014):
Survival of patients with initially unresectable colorectal liver metastases treated with FOLFOX/cetuximab or FOLFIRI/cetuximab in a multidisciplinary concept (CELIM study).
Ann Oncol 25, 2014, 1018–1025.
27. Forner, A., Llovet, J.M., Bruix, J. (2012):
Hepatocellular carcinoma.
Reprint. Publ. online February 20, 2012, www.thelancet.com,
doi: [10.1016/S0140-6736\(11\)61347-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61347-0).
28. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, Ganju V, Jeffery M, Schulz J, Richards D, Soufi-Mahjoubi R, Wang B, Barrueco J. (2007):
Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study.
J Clin Oncol. 25(30), 2007, 4779-86.
29. Fujita, K.-I., Kubota, Y., Sasaki, Y. (2015):
Irinotecan, a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer.
World J Gastroenterol, 21(43), 2015, 12234 - 12248.
30. George, M.L., Eccles, S.A., Tutton, M.G., Abulafi, A.M., Swift, R.I. (2000):
Correlation of Plasma and Serum Vascular Endothelial Growth Factor Levels with Platelet Count in Colorectal Cancer: Clinical Evidence of Platelet Scavenging.
Clin Cancer Res Vol. 6, 2000, 3147-3152.

31. Giantonio, B.J., Catalano, P.J., Meropol, N.J., O'Dwyer, P.J., Mitchell, E.P., Alberts, S.R., Schwartz, M.A., Benson III, A.B. (2007):
Bevacizumab in Combination With Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin (FOLFOX4) for Previously Treated Metastatic Colorectal Cancer: Results From the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200.
J Clin Oncol 25, 2007, 1539-1544.
32. Gillmore, Stuart, S., Kirkwood, A., Hameeduddin, A., Woodward R. und Burroughs, A.K., Meyer, T N. (2011):
EASL and mRECIST responses are independent prognostic factors for survival in hepatocellular cancer patients treated with transarterial embolisation.
J Hepatol 2011, vol. 55, 1309–1316.
33. Goel, S., Duda, D.G., Xu, L., Munn, L.L., Boucher, Y., Fukumura, D., Jain, R.K. (2011):
Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases.
Physiol Rev 91, 2011, 1071-1121.
34. Gong, J., Cho, M., Fakih, M. (2016):
Ras and BRAF in metastatic colorectal cancer management.
J Gastrointest Oncol 2016,7(5), 687-704.
35. Gordon, M.S., Margolin, K., Talpaz, M., Sledge, Jr, G. W., Holmgren, E., Benjamin, R., Stalter, S., Shak, S., Adelman, D.C. (2001):
Phase I Safety and Pharmacokinetic Study of Recombinant Human Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Advanced Cancer.
J Clin Oncol 19, 2001, 843-850.
36. Grothey, A, Van Cutsem, E, Sobrero, A, Siena, S, Falcone, A, Ychou, M, Humblet, Y, Bouché, O, Mineur, L, Barone, C, Adenis, A, Tabernero, J, Yoshino, T, Lenz, HJ, Goldberg, RM, Sargent, DJ, Cihon, F, Cupit, L, Wagner, A, Laurent, D. (2012):
Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial.
Publ. online November 22, 2012, www.thelancet.com,
doi: [10.1016/S0140-6736\(12\)61900-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61900-X)
37. Gruber-Rouh, T., Naguib, N.N.N., Eichler, K., Ackermann, H., Zangos, S., Trojan, J., Beerers, M., Harth, M., Schulz, B., Nour-Eldin, A., Vogl, T.J. (2014):
Transarterial chemoembolization of unresectable, systemic chemotherapy-refractory liver metastases from colorectal cancer: Long-term results over a 10-year period.
Int J. Cancer 134, 2014, 1225-1231.
38. Gustavsson, B., Carlsson, G., Machover, D., Petrelli, N., Roth, A., Schmoll, H.J., Tveit, K.-M., Gibson, F.(2015):
A Review of the Evoluton of Systemic Chemotherapy in the Managment of Colorectal Cancer.
Clin Colorectal Cancer, 2015, Vol. 14, No. 1, 1-10.
39. Hedge, P.S., Jubb, A.M., Chen, D., Li, N.F., Meng, G., Bernaards, C., Elliott, R., Scherer, S.J., Chen, D.S. (2012):
Predictive Impact of Circulating Vascular Endothelial Growth Factor in 4 Phase III Trials Evaluating Bevacizumab.
Clin Cancer Res Publ. Online November 20, 2012, 1-28,
doi:[10.1158/1078-0432.CCR-12-2535](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-2535).

40. Hofheinz, R.D., Hacker, U.T., Kubicka, S. (2013)
Neue antiangiogene Therapiestrategien beim kolorektalen Karzinom.
Bremen: UNI-MED Verlag AG; s. bes. S. 10-15, 45-52.
41. Huang, C.-y., Zhou, Q.-y., Hu, Y., Wen, Y., Qiu, Z.-w., Liang, M.-g., Mo, J.-l., Xu, J.-h., Sun, C., Liu, F.-b., Chen, X.-l. (2017):
Hepatocyte growth factor is a prognostic marker in patients with colorectal cancer: a meta-analysis.
Oncotarget Vol. 8, (No. 14), 2017, 23459-23469.
42. Huppert, P., Wenzel, T., Wietholtz, H. (2014):
Transcatheter Arterial Chemoembolization (TACE) of Colorectal Cancer Liver Metastases by Irinotecan-Eluting Microspheres in a Salvage Patient Population.
Cardiovasc Intervent Radiol (2014), 37, 154–164.
43. Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S., Holmgren, E., Ferrara, N., Fyfe, G., Rogers, B., Ross, R., Kabbinavar, F. (2004):
Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer
N Engl J Med 350;23, 2004, 2335-2342
44. Hurwitz, H.I., Tebbutt, N.C., Kabbinavar, F., Giantonio, B.J., Guan, Z.-Z., Mitchell, L., Waterkamp, D., Taberner, J. (2013):
Efficacy and Safety of Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer: Pooled Analysis From Seven Randomized Controlled Trials.
Oncologist 2013, 18, 1004–1012.
45. Jonker, D.J., O’Callaghan, C.J., Karapetis, C.S., Zalcborg, J.R., Tu, D., Au, H.-J., Berry, S.R., Krahn, M., Price, T., Simes, R.J., Tebbutt, N.C., van Hazel, G., Wierzbicki, R., Langer, C., Moore, M.J. (2007):
Cetuximab for the Treatment of Colorectal Cancer.
N Engl J Med 357, 2007, 2040-8.
46. Jürgensmeier, J.M., Schmoll, H.-J., Robertson, J.D., Brooks, L., Taboada, M., Morgan, S.R., Wilson, D., Hoff, P.M. (2013):
Prognostic and predictive value of VEGF, sVEGFR-2 and CEA in mCRC studies comparing cediranib, bevacizumab and chemotherapy.“
Br J Cancer (2013), 108, 1316–1323.
47. Khan, K., Cunningham, D., Chau, I. (2015):
Targeting Angiogenic Pathways in Colorectal Cancer: Complexities, Challenges and Future Directions.
Curr Drug Targets, 2015, Vol. 16, No. 5, 1-16.
48. Kieran, M.W., Kalluri, R., Cho, Y.-J. (2012)
The VEGF Pathway in Cancer and Disease: Responses, Resistance, and the Path Forward.
Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a006593, 1-17, doi:10.1101/cshperspect.a006593
49. Koch, S., Claesson-Welsh, L. (2012):
Signal Transduction by Vascular Endothelial Growth Factor Receptors.
Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a006502, 1-21, doi:10.1101/cshperspect.a006502.

50. Koeberle, D., Betticher, D.C., von Moos, R., Dietrich, D., Brauchli, P., Baertschi, D., Matter, K., Winterhalder, R., Borner, M., Anchisi, S., Moosmann, P., Kollar, A., Saletti, P., Roth, A., Frueh, M., Kueng, M., Popescu, R.A., Schacher, S., Hess, V., Herrmann, R. (2015): Bevacizumab continuation versus no continuation after first-line chemotherapy plus bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer: a randomized phase III non-inferiority trial (SAKK 41/06). *Ann Oncol* 26, 2015, 709-714.
51. Kopetz, S., Hoff, P.M., Morris, J.S., Wolff, R.A., Eng, C., Glover, K.Y., Adinin, R., Overman, M.J., Valero, V., Wen, S., Lieu, C., Yan, S., Tran, H.T., Ellis, L.M., Abbruzzese, J.L., Heymach, J.V. (2010): Phase II Trial of Infusional Fluorouracil, Irinotecan, and Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer: Efficacy and Circulating Angiogenic Biomarkers Associated With Therapeutic Resistance. *J Clin Oncol* 28(3), 2010, 453-459.
52. Krebs in Deutschland 2011/2012 (2015). 10.Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.), Berlin 2015; s. bes. S. 38-41.
53. Kubicka, S., Greil, R., André, T., Bennouna, J., Sastre, J., Van Cutsem, E., von Moos, R., P. Österlund, P., Reyes-Rivera, I., Müller, T., Makrutzki, M., Arnold, D. (2013): Bevacizumab plus chemotherapy continued beyond first progression in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with bevacizumab plus chemotherapy: ML18147 study KRAS subgroup findings. *Ann Oncol* 24, 2013, 2342–2349.
54. Kye, B.-H., Cho, H.-M. (2014): Overview of Radiation Therapy for Treating Rectal Cancer. *Ann Coloproctol* 2014, 30(4), 165-174.
55. Labianca, R., Nordlinger, B., Beretta, G.D., Mosconi, S., Mandala, M., Cervantes, A., Arnold, D. (2013): Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 24, Supp 6, 2013, 64 - 72.
56. Lammer, J., Malagari, K., Vogl, T., Pilleul, F., Denys, A., Watkinson, A., Pitton, M., Sergent, G., Pfammatter, T., Terraz, S., Benhamou, Y., Avajon, Y., Gruenberger, T., Pomoni, M., Langenberger, H., Schuchmann, M., Dumortier, J., Mueller, C., (2010): Prospective Randomized Study of Doxorubicin-Eluting-Bead Embolization in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: Results of the PRECISION V Study. *Cardiovasc Intervent Radiol* (2010), 33, 41–52.
57. Lee, H., Heo, J.S., Cho, Y.B., Yun, S.H., Kim, H.C., Lee, W.Y., Choi, S.H., Choi, D.W. (2015): Hepatectomy vs radiofrequency ablation for colorectal liver Hepatectomy vs radiofrequency ablation for colorectal liver. *World J Gastroenterol* 2015 March 21, 21(11), 3300-3307.
58. Lencioni, R., Llovet, J.M. (2010): Modified RECIST (mRECIST) Assessment for Hepatocellular Carcinoma. *Semin Liver Dis* 2010, 30, 52–60.

59. Lenz, H.J. (2007):
Cetuximab in the management of colorectal cancer.
Biologics: Targets & Therapy 1(2), 2007, 77–91.
60. Masi, G., Salvatore, L., Boni, L., Loupakis, F., Cremolini, C., Fornaro, L., Schirripa, M., Cupini, S., Barbara, C., Safina, V., Granetto, C., Fea, E., Antonuzzo, L., Boni, C., Allegrini, G., Chiara, S., D. Amoroso, D., Bonetti, A., Falcone, A. (2015):
Continuation or reintroduction of bevacizumab beyond progression to first-line therapy in metastatic colorectal cancer: final results of the randomized BEBYP trial.
Ann Oncol 26, 2015, 724–730.
61. Matias, M., Casa-Nova, M., Faria, M., Pires, R., Tato-Costa, J., Ribeiro, L., Costa, L. (2015):
Prognostic Factors after Liver Resection for Colorectal Liver Metastasis.
Acta Med Port 2015 May-Jun, 28(3), 357-369.
62. Mayer, R.J., Van Cutsem, E., Falcone, A., Yoshino, T., Garcia-Carbonero, R., Mizunuma, N., Yamazaki, K., Shimada, Y., Taberner, J., Komatsu, Y., Sobrero, A., Boucher, E., Peeters, M., Tran, B., Lenz, H.-J., Zaniboni, A., Hochster, H., Cleary, J.M., Prenen, H., Benedetti, F., Mizuguchi, H., Makris, L., Ito, M., Ohtsu, A. (2015):
Randomized Trial of TAS-102 for Refractory Metastatic Colorectal Cancer.
N Engl J Med 372, 2015, 1909-19.
63. Niizeki, T., Sumie, S., Torimura, T., Kurogi, J., Kuromatsu, R., Iwamoto, H., Aino, H., Nakano, M., Kawaguchi, A., Kakuma, T., Sata, M. (2012):
Serum vascular endothelial growth factor as a predictor of response and survival in patients with advanced hepatocellular carcinoma undergoing hepatic arterial infusion chemotherapy.
J Gastroenterol 47, 2012, 686–695.
64. Ohhara, Y., Fukuda, N., Takeuchi, S., Honma, R., Shimizu, Y., Kinoshita, I., Dosaka-Akita, H. (2016):
Role of targeted therapy in metastatic colorectal cancer.
World J Gastrointest Oncol 2016 September 15, 8(9), 642-655.
65. Panczyk, M. (2014):
Pharmacogenetics research on chemotherapy resistance in colorectal cancer over the last 20 years.
World J Gastroenterol 2014 August 7, 20(29), 9775-9827.
66. Passardi, A., Nanni, O., Tassinari, D., Turci, D., Cavanna, L., Fontana, A., Ruscilli, S., Mucciarini, C., Lorusso, V., Ragazzini, A., Frassinetti, G.L., Amadori, D. (2015):
Effectiveness of bevacizumab added standard chemotherapy in metastatic colorectal cancer: final results for first-line treatment from the ITACa randomized clinical trial.
Ann Oncol 26, 2015, 1201-1207.
67. Peeters, M., Price, T. J. , Cervantes, A., Sobrero, A. F. , Ducreux, M., Hotko, Y., André, T., Chan, E., Lordick, F., Punt, C. J. A. , Strickland, A. H. , Wilson, G. , Ciuleanu, T. E., Roman, L., Van Cutsem, E., Tian, Y., Sidhu, R. (2014):
Final results from a randomized phase 3 study of FOLFIRI ± panitumumab for second-line treatment of metastatic colorectal cancer.
Ann Oncol 25, 2014, 107–116.
68. Petrelli, F., Coiu, A., Ghilardi, M., Cabiddu, M., Zaniboni, A., Barni, S. (2015):
Efficacy of Oxaliplatin-based Chemotherapy + Bevacizumab as First-line Treatment for Advanced Colorectal Cancer; A Systematic Review and Pooled Analysis of Published Trials.
Am J Clin Oncol 2015, 38, 227–233.

69. Pfannschmidt, J., Dienemann, H., Hoffmann, H. (2007):
Surgical Resection of Pulmonary Metastases From Colorectal Cancer: A Systematic Review of Published Series.
Ann Thorac Surg 2007, *84*, 324–38.
70. Piessevaux, H., Buyse, M., De Roock, W., Prenen, H., Schlichting, M., Van Cutsem, E., Tejpar, S. (2009):
Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial).
Ann Oncol 20, 2009, 1375–1382.
71. Piessevaux, H., Buyse, M., Schlichting, M., Van Cutsem, E., Bokemeyer, C., Heeger, S., Tejpar, S. (2013):
Use of Early Tumor Shrinkage to Predict Long-Term Outcome in Metastatic Colorectal Cancer Treated With Cetuximab.
J Clin Oncol 31, 2013, 3764-3775.
72. Prajapati, H.J., Spivey J.R., Hanish, S.I., El-Rayes, B.F., Kauh, J.S., Chen, Z., Kim, H.S. (2013):
mRECIST and EASL responses at early time point by contrast-enhanced dynamic MRI predict survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma (HCC) treated by doxorubicin drug-eluting beads transarterial chemoembolization (DEB TACE).
Ann Oncol 24, 2013, 965–973.
73. Ranieri, G., Ammendola, M., Marech, I., Laterza, A., Abbate, I., Oakley, C., Vacca, A., Sacco, R., Gadaleta, C.D. (2015):
Vascular endothelial growth factor and tryptase changes after chemoembolization in hepatocarcinoma patients.
World J Gastroenterol 2015 May 21, 21(19), 6018-6025.
74. Raval, M., Bande, D., Pillai, A.K., Blaszkowsky, L.S., Ganguli, S., Beg, M.S., Kalva, S.P. (2014):
Yttrium-90 radioembolization of hepatic metastases from colorectal cancer.
Front Oncol July 2014, Vol. 4, Article 120, 1-8, doi: [10.3389/fonc.2014.00120](https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00120)
75. Saltz, L.B., Clarke, S., Diaz-Rubino, E., Scheithauer, W., Figer, A., Wong, R., Koski, S., Lichinitser, M., Yang, T.-S., Rivera, F., Coutoure, F., Sirzen, F., Cassidy, J. (2008):
Bevacizumab in Combination With Oxaliplatin-Based Chemotherapy As First-Line Therapy in Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Phas III Study.
J Clin Oncol 26, 2008, 2013-2019.
76. Schmidt, H.H.-J., Ghany, M., Hoofnagle, J.H. (2005):Zugang zum leberkranken Patienten. In: Dietel, M., Suttorp, N., Zeitz, M. (Hrsg.): *Harrisons Innere Medizin*. 16. Auflage. S. 1946-1951, Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2005.
77. Schmoll, H.J. (2013): Aflibercept - ein innovatives antiangiogenes Wirkprinzip. *Thieme Drug Report Heft 9*, 7.Jahrgang, August 2013
Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
78. Shim, J.H., Park, J.-W., Kim, J.H., An, M., Kong, S.-Y., Nam, B.-H., Choi, J.-I., Kim, H.B., Lee, W.J., Kim, C.m. (2008):
Association between increment of serum VEGF level and prognosis after transcatheter arterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma patients.
Cancer Sci October 2008 vol. 99 no. 10, 2037–2044.

79. Sorbye H, Mauer M, Gruenberger T, Glimelius B, Poston GJ, Schlag PM, Rougier P, Bechstein WO, Primrose JN, Walpole ET, Finch-Jones M, Jaeck D, Mirza D, Parks RW, Collette L, Van Cutsem E, Scheithauer W, Lutz MP, Nordlinger B. (2012): Predictive factors for the benefit of perioperative FOLFOX for resectable liver metastasis in colorectal cancer patients (EORTC Intergroup Trial 40983). *Ann Surg.* 2012 Mar, *255*(3), 534-9.
80. Starlinger, P., Alidzanovic, L., Schauer, D., Maier, T., Nemeth, C., Perisanidis, B., Tamandl, D., Gruenberger, B., Gruenberger, T., Brostjan, C. (2012): Neoadjuvant bevacizumab persistently inactivates VEGF at the time of surgery despite preoperative cessation. *Br J Cancer* (2012), *107*, 961–966.
81. Suzuki, H., Mori, M., Kawaguchi, C., Miura, S., Ishii, H. (1999): Serum vascular endothelial growth factor in the course of transcatheter arterial embolization of hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.* 1999 Jun, *14*(6), 1087-90.
82. Tabernero J, Yoshino T, Cohn AL, Obermannova R, Bodoky G, Garcia-Carbonero R, Ciuleanu TE, Portnoy DC, Van Cutsem E, Grothey A, Prausová J, Garcia-Alfonso P, Yamazaki K, Clingan PR, Lonardi S, Kim TW, Simms L, Chang SC, Nasroulah F. (2015): Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study *Lancet Oncol.* 2015 May, *16*(5), 499-508.
83. Van Cutsem, E., Tabernero, J., Lakomy, R., Prenen, H., Prausova, J., Macarulla, T., Ruff, P., van Hazel, G.A., Moiseyenko, V., Ferry, D., McKendrick, J., Polikoff, J., Tellier, A., Castan, R., Allegra, C. (2012) Addition of Aflibercept to Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan Improves Survival in a Phase III Randomized Trial in Patients With Metastatic Coloectal Cancer Previously Treated With an Oxaliplatin-Based Regimen. *J Clin Oncol* 30, 2012 (Reprint), 1-9.
84. Van Hazel, G.A., Heinemann, V., Sharma, N.K., Findley, M.P.N., Ricke, J., Peeters, M., Perez, D., Robinson, B.A., Strickland, A.H., Ferguson, T., Rodriguez, J., Kröning, H., Wolf, I., Ganju, V., Walpole, E., Boucher, E., Tichler, T., Shackam-Shmueli, E., Powell, A., Eliadis, P., Isaacs, R., Price, D., Moeslein, F., Taieb, j., Bower, G., GebSKI, V., Van Buskirk, M., Cade, D.N., Thurston, K., Gibbs, P. (2016): SIRFLOX: Randomized Phase III Trial Comparing First-Line mFOLFOX6 (Plus or Minus Bevacizumab) Versus mFOLFOX6 (Plus or Minus Bevacizumab) Plus Selective Internal Radiation Therapy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2016 May 20, *34*(15), 1723-31.
85. Varey, A.H.R., Rennel, E.S., Qiu, Y., Bevan, H.S., Perrin, R.M., Raffy, S., Dixon, A.R., Paraskeva, C., Zaccheo, O., AB Hassan, A.B., Harper, S.J., Bates, D.O. (2008): VEGF165b, an antiangiogenic VEGF-A isoform, binds and inhibits bevacizumab treatment in experimental colorectal carcinoma: balance of pro- and antiangiogenic VEGF-A isoforms has implications for therapy. *Br J Cancer* 98, 2008, 1366 – 1379.

86. Wilkinson, N.W., Yothers, G., Lopa, S., Costantino, J.P., Petrelli, N.J., Wolmark, N. (2010): Long Term Survival Results of Surgery Alone versus Surgery plus 5-Fluorouracil and Leucovorin for Stage II and Stage III Colon Cancer: Pooled Analysis of NSABP C-01 through C-05 Baseline from Which to Compare Modern Adjuvant Trials. *Ann Surg Oncol.* 2010 April, 17(4), 959–966.
87. Xu, K.-C., Niu, L.-Z., He, W.-B., Hu, Y.-Z., Zuo, J.-S. (2008): Percutaneous cryosurgery for the treatment of hepatic colorectal metastases. *World J Gastroenterol* 2008 March 7, 14(9), 1430-1436.
88. Yoshino, T., Komatsu, K., Yamada, Y., Yamazaki, K., Tsuji, A., Ura, T., Grothey, A., Van Cutsem, E., Wagner, Cihon, F., Hamada, Y., Ohtsu, A. (2015): Randomized phase III trial of regorafenib in metastatic colorectal cancer: analysis of the CORRECT Japanese and non-Japanese subpopulations. *Invest New Drugs* (2015), 33, 740–750.
89. Zhao, Y.-J., Han, H.-Z., Liang, Y., Shi, C.-Z., Zhu, Q.-C., Yang, J. (2015): Alternative splicing of VEGFA , APP and NUMB genes in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 21(21), 2015, 6550-6560.

B **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1:	Ablauf der Therapie und der VEGF-Serumbestimmungen	S. 33
Abb. 2:	Gesamtüberleben aller Patienten ab Beginn DEBIRI	S. 37
Abb. 3:	mediane VEGF-Basalwerte im Serum abhängig von der Vorbehandlung mit oder ohne Bevacizumab	S. 39
Abb. 4:	VEGF-Basalwerte im Serum abhängig vom Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe	S. 40
Abb. 5:	VEGF-Basalwerte im Serum abhängig von Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe vor 1.DEBIRI	S. 40
Abb. 6:	Gesamtüberleben abhängig von VEGF-Basalwerten < oder ≥ des Medians	S. 41
Abb. 7:	VEGF-Basalwerte ≥ oder < des Medians abhängig von Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Gabe	S. 42
Abb. 8:	Verlauf der medianen VEGF-Werte im Serum in den Gruppen mit steigenden und fallenden Werten, sowie deren absolute Veränderungen zu den Basalwerten	S. 43
Abb. 9:	Anteil der Patienten mit VEGF-Basalwerten ober- und unterhalb des Medianwertes in den Gruppen mit steigenden und fallenden Werten 1 Woche nach der ersten DEBIRI	S. 44
Abb. 10:	VEGF-Verlauf von den Basalwerten zu den Werten eine Woche nach erster DEBIRI bezogen auf Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Gabe	S. 45
Abb. 11:	Patienten mit steigenden und fallenden VEGF-Werten zum Zeitpunkt Z1, bezogen auf Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Gabe	S. 45
Abb. 12:	Absolute VEGF-Veränderung 1 Woche nach 1. DEBIRI abhängig vom Intervall seit letzter Bevacizumabgabe für die Gruppe, deren letzte Gabe mehr als 5 Wochen zurücklag	S. 46
Abb. 13:	Gesamtüberleben bezogen auf eine Vorbehandlung mit oder ohne Bevacizumab	S. 47
Abb. 14:	Gesamtüberleben für die 3 Gruppen: 1. Bevacizumab nie erhalten, 2. Letzte Bevacizumabgabe länger als 5 Wochen her, 3. Bevacizumab zuletzt innerhalb der letzten 5 Wochen	S. 48
Abb. 15:	Gesamtüberleben für Responder/Non-Responder nach 4 Wochen in der Auswertung nach RECIST	S. 50
Abb. 16:	Gesamtüberleben für Responder/Non-Responder nach 12 Wochen in der Auswertung nach RECIST	S. 51
Abb. 17:	Gesamtüberleben für Responder/Non-Responder nach 4 Wochen in der Auswertung nach mRECIST	S. 52
Abb. 18:	Gesamtüberleben für Responder/Non-Responder nach 12 Wochen in der Auswertung nach mRECIST	S. 52
Abb. 19:	Gesamtüberleben für Patienten mit positivem und negativem Nodalstatus bei der Erstdiagnose	S. 54
Abb. 20:	Gesamtüberleben unterteilt nach Anzahl der Metastasen	S. 55

C	Tabellenverzeichnis	
Tabelle 1:	Patientencharakteristika	S. 31
Tabelle 2:	VEGF-Werte zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten jeweils in pg/ml	S. 38
Tabelle 3:	Medianer VEGF-Basalwert in pg/ml abhängig von Bevacizumabvorthherapie und Intervall seit der letzten Bevacizumabgabe vor 1.DEBIRI	S. 40
Tabelle 4:	statistische Signifikanz der absoluten VEGF-Veränderungen zu den Zeitpunkten Z2 und Z3	S. 44
Tabelle 5:	Ergebnisse der Auswertung nach RECIST	S. 49
Tabelle 6:	Ergebnisse der Auswertung nach mRECIST	S. 49

D	Abkürzungen
ATP	Adenosintriphosphat
BRAF	Proteinkinase
BSC	best supportive care
CEA	carcino embryonic antigen (Tumormarker)
CPT-11	Camptothecin-11 = Irinotecan
CR	complete response / komplette Remission
CRC	colorectal carcinoma / kolorektales Karzinom
CRO	clinical research organization
CT	Computertomographie
cTACE	conventional TACE / konventionelle transarterielle Chemoembolisation
DEB	Drug-Eluting Beads
DEBDOX	Drug-Eluting Beads mit Doxorubicin beladen
DEBIRI D	rug-Eluting Beads mit Irinotecan beladen
DFS	disease free survival / krankheitsfreies Überleben
DNA	Desoxyribonucleic acid / Desoxyribonukleinsäure
EASL	European Association for the Study of the Liver
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EIA	Enzyme Immuno Assay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FDA	U.S. Food & Drug Administration
FGF(R)	fibroblast growth factor (receptor)
FOLFIRI	Chemotherapie-Protokoll mit Irinotecan, 5-Fluorouracil und Folinsäure
FOLFOX	Chemotherapie-Protokoll mit Oxaliplatin, 5-Fluorouracil und Folinsäure
FOLFOXIRI	Chemotherapie-Protokoll mit Oxaliplatin, Irinotecan, 5-Fluorouracil und Folinsäure
FUTP	5-Fluorouridintriphosphat
HAI	Hepatic Artery Infusion
HCC	hepatocellular carcinoma / hepatozelluläres Karzinom
HER	human epidermal growth factor receptor
HGF	hepatocyte growth factor
HR	hazard ratio
ICH	International Conference of Harmonisation
IFL	Chemotherapie-Protokoll mit Irinotecan, 5-Fluorouracil und Leucovorin
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
ISO	International Organization of Standardization
JÜR	Jahresüberlebensrate

kD	kilo Dalton
KEM	Kliniken Essen Mitte
KI	Konfidenzintervall
KIT	Rezeptortyrosinkinase
µm	Mikrometer
mRECIST	modified Response Evaluation Criteria of Solid Tumors
mRNA	messenger ribonucleic acid / Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
ORR	overall response rate
OS	overall survival / Gesamtüberleben
PD	progressive disease / progrediente Erkrankung
PDGF(R)	platelet derived growth factor (receptor)
PFS	progression free survival / progressionsfreies Überleben
pg	picogramm
PIGF	placental growth factor
PR	partial response / partielle Remission
PS	Performance Status, auch ECOG-Performance-Status
RAF	rapidly accelerated fibrosarcoma, Proteinkinase
ras-WT	ras-Wildtyp
RECIST	Response Evaluation Criteria of Solid Tumors
RET	Rezeptortyrosinkinase
RFA	Radiofrequenzablation
R0	Keine mikroskopischen Tumorreste nach Operation erkennbar
R1	mikroskopische Tumorreste nach Operation erkennbar
SIRT	Selektive Intraarterielle Radio-Therapie
SN38(G)	aktiver Metabolit von Irinotecan (glucoronidiert, dann inaktiv)
SD	stable disease / stabile Erkrankung
TA(C)E	Transarterielle (Chemo-)embolisation
TACP	Transarterielle Chemoperfusion
TAS-102	Trifluridin/Tipiracil
Tie-R	Tyrosinkinaserzeptor
TNM	Tumorstagingssystem (tumor, nodes, metastases)
TTP	time to progression
UICC	Union internationale contre le cancer
VEGF(R)	vascular endothelial growth factor (receptor)
WHO	World Health Organization
5-FU	5-Fluorouracil

Patienteninformation

„Verwendung von Vollblut bei Patienten mit führend hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom zur Ermittlung des VEGF-Plasmaspiegels als möglichen prädiktiven Faktor hinsichtlich des Tumorausprechens“

Liebe Patientin, lieber Patient.!

Bei Ihnen wurde ein fortschreitendes Wachstum von Lebermetastasen aufgrund eines bösartigen Darmtumors diagnostiziert. Es wurden bereits die gängigsten Chemo- und Antikörpertherapien durchgeführt. Daher wurde Ihnen die Durchführung einer regionalen Therapie, d.h. einer Chemoembolisation der Leber empfohlen. In der Durchführung dieser Therapieform, die sich in den letzten Jahren etabliert hat, sowie der Behandlung von möglicherweise auftretenden Nebenwirkungen, haben wir in den letzten Jahren große Fortschritte erreicht. Leider können wir nicht sicher vorhersagen, ob diese Therapie bei einem Patienten wirkt oder nicht. Aus diesem Grund suchen wir nach Möglichkeiten, die Wirksamkeit einer Therapie vorherzusagen.

Die Überlegung eine Chemoembolisation durchzuführen, hat ihre Grundlage in der besonderen Blutversorgung der Leber. Die gesunde Leber ernährt sich zu über 80% aus der Pfortader, die das nährstoffreiche Blut aus Magen, Dünndarm und Teilen des Dickdarms in die Leber führt. Metastasen der Leber ernähren sich bis zu einer Größe von 1 – 3 mm durch Diffusion. Wachsen die Tumore weiter, so benötigen sie eigene Gefäße. Es kommt zur Ausschüttung von Gefäßwachstumsfaktoren wie zum Beispiel dem VEGF (vascular endothelial growth factor). Das dann einsetzende Gefäßwachstum entsteht aus der Leberarterie, die die Leber wie jedes andere Organ auch hat, für die normale Ernährung aber nur zu maximal 20 % benötigt. Hier kommt es zu einer Umkehrung der Blutversorgung. Metastasen ernähren sich zu über 80% aus der Leberarterie, die man über einen Katheter, der in örtlicher Betäubung über die Leiste wie bei einer Herzkatheter Untersuchung erreicht werden kann. Somit behandelt man bei einer Chemoembolisation sehr selektiv Lebertumore unter Schonung des übrigen Lebergewebes. Die bei Ihnen zur Chemoembolisation eingesetzten Drug eluting beads sind kleine Kügelchen mit einer Größe von 100 bis 300 µm, die kontrolliert über 14 Tage Zytostatika, in Ihrem Fall das Medikament Irinotecan freisetzen und zusätzlich den Tumor durch die Embolisation schädigen. Verschließt man nun die den Tumor versorgenden Gefäße, die so genannten „Feeder“ auf diese Weise, so wird ein größerer Teil des Tumors zerstört. Die überlebenden Zellen benötigen im Verlauf, wenn es zu einem erneuten Wachstum kommt, wieder ein Gefäß zur Versorgung und es werden wieder entsprechende Botenstoffe ausgesandt.

VEGF als einer der zentralen Gefäßwachstumsfaktoren kann in einer normalen Vollblutprobe nachgewiesen und bestimmt werden.

Bei zwei anderen Tumorarten, den neuroendokrinen Tumoren und dem primären Leberzellkrebs (HCC) konnte gezeigt werden, dass der Anstieg des VEGF bereits innerhalb der ersten Woche nach durchgeführter Chemoembolisation beginnt und insbesondere bei HCC die Steilheit des Anstiegs einen Vorhersagewert für einen Therapieerfolg hatte. Diese Daten gibt es bei Lebermetastasen von Dickdarmkrebs noch nicht.

Wir wollen in unserer Studie untersuchen, ob VEGF auch bei regionaler Therapie mit Drug eluting Beads bei Lebermetastasen aufgrund eines malignen Darmtumors, einen solchen Therapieerfolg vorhersagen kann. Dazu benötigen wir Ihre Mithilfe.

Es wäre notwendig am Tag vor der Therapie, sowie 7 Tage nach Durchführung, eine Blutentnahme vorzunehmen. Dies würde im Rahmen einer sowieso anstehenden Blutentnahme zur Bestimmung weiterer Laborparameter geschehen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung würden Ihrer Patientenakte hinzugefügt und wären von Ihnen jederzeit abfragbar. Die Daten würden anschließend im Rahmen der Studie ausgewertet werden. Bei einer Veröffentlichung der Ergebnisse wäre Ihr Name nicht mit irgendwelchen Einzelergebnissen in Verbindung zu bringen.

Die Risiken einer Blutentnahme bestehen in der Verletzung der Haut und möglicherweise kleinerer Hautnerven. Es kann zu einer Entzündung der Einstichstelle kommen. Des Weiteren können Blutergüsse im Bereich der Einstichstelle auftreten, welche auch schmerzhaft sein und zu einer kurzfristigen Bewegungseinschränkung des betroffenen Armes führen können.

Die Zustimmung zur Untersuchung Ihrer Blutprobe ist völlig unabhängig von einer Behandlung durch eine Chemoembolisation.

Im Rahmen dieser Untersuchungen ist auch geplant, Ihre krankheitsbezogenen Daten zu erheben. Die persönlichen Informationen, Informationen in Zusammenhang mit der von Ihnen zur Verfügung gestellten Blutprobe und im Rahmen der Verlaufsbeobachtung ihrer Erkrankung erhobene klinische Informationen (z.B.: Therapieansprechen, Nebenwirkungen u.a.) werden entsprechend der geltenden gesetzlichen Vorschriften pseudoanonymisiert. Das heißt, dass Ihre persönlichen Daten derart verändert werden, dass die Einzelangaben über Sie nicht mehr oder nur mit einem unverhältnismäßig großen Aufwand an Zeit, Kosten und Arbeitskraft Ihnen zugeordnet werden kann.

Die zur Durchführung von Forschungsprojekten möglicherweise erforderliche Weitergabe der von Ihnen zur Verfügung gestellten Blutproben oder klinischer Daten an andere wissenschaftliche Einrichtungen erfolgt in vollständig anonymisierter Form und nach Prüfung der Forschungsvorhaben durch ein unabhängiges wissenschaftliches Gremium. Im Fall der Weiterleitung des Materials werden Ihre persönlichen Daten derart verändert, dass Einzelangaben über persönliche oder sachliche Verhältnisse nicht mehr zugeordnet werden können.

Bitte richten Sie alle Fragen, die im Zusammenhang mit dieser Untersuchung stehen, an Herrn S. Dyrda, Klinik für internistische Onkologie/Hämatologie, Kliniken Essen-Mitte, Henricistr. 92, 45136 Essen, (Tel.: 0201/17424029)

Vielen Dank für Ihre Mithilfe

Einverständniserklärung

„Verwendung von Vollblut bei Patienten mit führend hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom zur Ermittlung des VEGF-Serumspiegels als möglicherweise prädiktiven Faktor hinsichtlich des Tumoransprechens“

Ich, _____, geboren am _____, stimme hiermit zu, dass Blutproben für die im Rahmen der Studie benötigten Zwecke verwendet werden können.

Ich wurde über diese Zwecke, die Art der Materialgewinnung und den Inhalt der Studie ausführlich informiert. Das Patienteninformationsblatt wurde mir ausgehändigt. Ich versichere es gelesen und den Inhalt verstanden zu haben. Eventuell aufgetretene Fragen wurden mir zu meiner Zufriedenheit beantwortet.

Ich wurde über mögliche Nebenwirkungen und Komplikationen informiert.

Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung widerrufen kann, und dass ein Widerruf keinen Einfluss auf meine weitere ärztliche Behandlung hat.

Eine Kopie der Patienteninformation und der Einverständniserklärung wurden mir ausgehändigt.

Frau/Herr Dr. _____ hat die Bereitstellung der Blutproben mit mir erörtert und mich über Wesen, Bedeutung und Tragweite dieses Projektes umfassend aufgeklärt.

Im Rahmen der Untersuchung werden persönliche Daten und medizinische Befunde über mich erhoben. Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser projektbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme folgende freiwillige Einwilligung voraus.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen der Studie erhobene Daten (auch Krankheitsdaten aus meinen Krankenunterlagen) auf Papier oder elektronischen Daten aufgezeichnet und ausgewertet werden dürfen. Eine Veröffentlichung der Daten erfolgt nur in pseudoanonymisierter Form. Meine Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz.

Mit der vorstehend geschilderten Vorgehensweise bin ich einverstanden und bestätige dies mit meiner Unterschrift.

Name und Unterschrift des Patienten

Ort und Datum

Name und Unterschrift Studienleiter/Projektleiter

Ort und Datum



ÄRZTEKAMMER NORDRHEIN

Körperschaft des öffentlichen Rechts

ETHIKKOMMISSION

Herrn Prof. Dr. med. Hansjochen Wilke
 Herrn Dr. med. Stefan Pluntke
 Kliniken Essen-Mitte
 Evang. Huysens-Stiftung
 Klinik für Innere Medizin IV und Internistische Onkologie/Hämatologie
 Henricistraße 92
 45136 Essen

15.02.2011 Prof. S.-R./cr
 lfd. Nummer 2010452

Berufsrechtliche Beratung vor der Durchführung biomedizinischer Forschung am Menschen nach § 15 Berufsordnung

Nicht-randomisierte Phase I/Pilot-Studie zum Verhalten der VEGF-Serum-Spiegel nach Chemoembolisation von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome mit Drug eluting beads

- Protokoll-Nr.: DIZERT001 -

hier: Ihr Schreiben vom 31.01.2011 / Eingang 10.02.2011

Sehr geehrter Herr Prof. Wilke,
 sehr geehrter Herr Dr. Pluntke,

die Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein hat Ihr oben genanntes Schreiben mit dem CE-Zertifikat, dem Informationsmaterial und die Validitätsnachweise zur Kenntnis genommen. Damit konnten Sie alle Punkte unseres Schreibens vom 20.01.2011 zufrieden stellend umsetzen, so dass keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken mehr gegen die Durchführung der Studie bestehen.

Vorsorglich weist die Ethikkommission darauf hin, dass die ärztliche und juristische Verantwortung für die Durchführung des Projektes uneingeschränkt bei Ihnen und Ihren Mitarbeitern verbleibt.

Änderungen in Organisation und Ablauf der klinischen Prüfung sollten der Kommission umgehend zur Beratung mitgeteilt und **die geänderten Passagen deutlich kenntlich gemacht werden**, da sich das oben genannte Votum nur auf die bisher vorgelegten Unterlagen bezieht.

Ärztekammer Nordrhein
 Tersteegenstraße 9 · 40474 Düsseldorf
 Telefon 02 11/43 02-22 72 · Telefax 02 11/43 02-22 79
 E-Mail: ethik@aekno.de
 Internet: www.aekno.de

Bankverbindung
 Deutsche Apotheker- und Ärztebank eG,
 Düsseldorf (BLZ 300 606 01) 0001 145 290
 IBAN DE89 3006 0601 0001 1452 90
 BIC DAAEDED3

Kernarbeitszeit: Montag bis Donnerstag 9 Uhr bis 16 Uhr, Freitag 9 Uhr bis 14 Uhr



ÄRZTEKAMMER NORDRHEIN

Körperschaft des öffentlichen Rechts

ETHIKKOMMISSION

Seite 2

lfd. Nummer 2010452

Wir gehen davon aus, dass durch Sie die Prüfarzte in unserem Kammerbezirk über die Änderungen informiert werden.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Seht-Ricken
Vorsitzende der Ethikkommission

Ärztammer Nordrhein
Tersteegenstraße 9 · 40474 Düsseldorf
Telefon 02 11/43 02-22 72 · Telefax 02 11/43 02-22 79
E-Mail: ethik@aekno.de
Internet: www.aekno.de

Bankverbindung
Deutsche Apotheker- und Ärztebank eG,
Düsseldorf (BLZ 300 606 01) 0001145 290
IBAN DE89 3006 0601 00011452 90
BIC DAAEEDDD

Kernarbeitszeit: Montag bis Donnerstag 9 Uhr bis 16 Uhr, Freitag 9 Uhr bis 14 Uhr

H Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.