

**Aus dem Zentrum für Neurologie der Universität Tübingen
Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung
Abteilung Allgemeine Neurologie
Stellv. Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Melms**

**Rezidivmuster bei neu diagnostizierten Glioblastomen:
Rolle der Temozolomid-Chemotherapie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Anna-Carina Eisele, geb. Beule

aus

Winterberg

2009

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Wick
2. Berichterstatter: Frau Professor Dr. U. Ernemann

**Meinen Eltern
Karl und Monika Beule
gewidmet**

Rezidivmuster bei neu diagnostizierten Glioblastomen: Rolle der Temozolomid-Chemotherapie

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Einleitung	
1.1 Glioblastome	6
1.1.1 Epidemiologie	6
1.1.2 Klassifikation und Pathogenese	6
1.1.3 Klinische Symptome	9
1.1.4 Diagnostik	10
1.1.5 Therapiestrategien und Prognose	14
1.2 Temozolomid	17
1.3 Aspekte der Gliom-Biologie - Migration und Invasion	19
1.4 Zielsetzung	21
II Patienten und Methoden	
2.1 Patientenauswahl	23
2.2 Analyse der Tumorlokalisierung mittels MRIcro	23
2.3 Statistik	27
III Ergebnisse	
3.1 Studienpopulation	28
3.2 Analyse der Rezidivmuster - Lokalisation und Größe der Glioblastome	29
3.3 Einfluss der Therapie auf die Lageveränderung der Tumore	34
IV Diskussion	36
V Zusammenfassung	39

VI	Anhang	40
VII	Literaturverzeichnis	41
VIII	Danksagung	45

I Einleitung

1.1 Glioblastome

Glioblastome sind hirneigene Tumoren, die trotz multimodaler Therapie in einem nicht selektierten Patientengut im Median nach 12-15 Monaten zum Tod der betroffenen Patienten führen (Wick et al., 2007).

1.1.1 Epidemiologie

Primäre Hirntumore umfassen nur knapp 2 Prozent aller Krebserkrankungen und gehören somit zu den seltenen Neoplasien (Prados and Levin, 2000). Dabei macht das Glioblastom 12-15% aller intrakraniellen Neubildungen und 50-60% aller Tumoren astrozytären Ursprungs aus (Hess et al., 2004; Radhakrishnan et al., 1995). Die Inzidenz des Glioblastoms liegt in der westlichen Welt bei 2-3 Neuerkrankungen pro 100.000 Personen im Jahr. Der Altersgipfel der Erkrankung liegt bei 40-60 Jahren. Männern sind etwa 1,3-mal häufiger betroffen als Frauen (Ohgaki and Kleihues, 2005).

1.1.2 Klassifikation und Pathogenese

Gliome sind Tumoren die nach den bisherigen, vor allem morphologischen Kriterien von den Stützzellen des Zentralnervensystems auszugehen scheinen. Entsprechend ihres histologisch ähnlichen Ursprungsgewebes werden astrozytäre, oligodendrogliale und ependymale Gliome, sowie Mischformen unterschieden. Obwohl die Terminologie, Glioblastom oder Oligodendrogliom, ein ausreichend definiertes Konzept des Ursprungs maligner Hirntumoren suggeriert, konnten bis heute weder „Glioblasten“ beschrieben werden, noch wurde bewiesen, dass Oligodendrozyten oder ihre Vorläufer Oligodendroglione bilden. Der zelluläre Ursprung maligner hirneigener Tumoren, die im mittleren oder höheren Lebensalter entstehen, ist ungeklärt. Eine aktuell favorisierte Hypothese ist die Entstehung von primären Gehirntumoren aus tumorigenen

Stammzellen, die im adulten Gehirn verbleiben (Ruiz i Altaba et al., 2002). Unabhängig vom Konzept einer Ursprungszelle hat die Hypothese einer hierarchischen Organisation verschiedener Tumorentitäten zu Überlegungen bezüglich differentieller therapeutischer Ansätze gegen sich selbst erneuernde und den Tumor rekonstituierende Tumorstammzellen und gegen Nicht-Tumorstammzellen geführt. Es wurde gezeigt, dass auch solide Tumoren, Mamma-Karzinome und Hirntumoren Tumorstammzellen enthalten (Hemmati et al., 2003; Singh et al., 2003; Singh et al., 2004). Aktuelle Arbeiten zeigen in Biopsaten maligner Gliome zu etwa 8% durch den Oberflächenmarker CD133 charakterisierte Glioblastom-initiiierende Zellen, die *in vitro* und *in vivo* durch Selbsterneuerung und Proliferation das Wachstum des Tumors gewährleisten und im Gegensatz zu Nicht-Stammzellen in geringer Zellzahl (<100) Tumoren *in vivo* bilden können (Beier et al., 2007). Diese Zellen werden im Folgenden Glioblastom-Stammzellen genannt. Einschränkend muss erwähnt werden, dass der Marker CD133 wohl nicht obligat ist für Glioblastom-initiiierende Zellen (Dieter Lemke, Heidelberg, persönliche Kommunikation). Stammzellen sind im Sinne der hierarchischen, aus der Stammzellbiologie bekannten Organisation in der Lage durch asymmetrische Mitosen sich selbst und Nicht-Stammzellen zu generieren. Für Glioblastome charakteristische genetische Veränderungen, wie Mutationen von p53 oder Verluste von *phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10* (PTEN) finden sich in Stammzellen und Nicht-Stammzellen (Singh et al., 2003; Singh et al., 2004). Therapieversagen bei Hirntumoren könnte darauf zurückzuführen sein, dass keine der Therapiemodalitäten effektiv oder selektiv gegen Tumorstammzellen gerichtet ist (Bao et al., 2006) oder dass sich die Glioblastomstammzellen aus einem zur Haupttumormasse distanten Reservoir, z.B. subependymal oder hippocampal, rekrutieren (Berger et al., 2004). Eine Behandlung dieser Tumorstammzellen könnte ausreichend sein, um das Tumorwachstum ursächlich zu bekämpfen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat die Gliome anhand ihres Differenzierungsgrades und ihrer Malignität in vier Grade (I-IV) unterteilt (Kleihues et al., 2002; Louis et al., 2007). Diese histologische Klassifizierung hat vor allem prognostische Bedeutung. Astrozytäre Tumore werden in die

Gruppe der umschriebenen Astrozytome (Grad I) und die Gruppe der diffusen Astrozytome (Grad II-IV) unterteilt. Pilozytische Astrozytome (Grad I) zählen zu den biologisch benignen, vor allem bei Kindern auftretenden Tumoren und haben eine günstige Prognose. Sie sind neben der Altersverteilung auch hinsichtlich Biologie und Prognose distinkt von allen anderen Gliomen. In die Gruppe der diffusen Tumoren gehören das Astrozytom (Grad II) mit den Subtypen fibrilläres, protoplasmatisches und gemistozytäres Astrozytom, die anaplastischen Gliome (Astrozytom, Oligodendrogliom und Oligoastrozytom) (Grad III) und das Glioblastom (Grad IV) mit der schlechtesten Prognose. Grad III und IV Gliome werden vor allem in der älteren Literatur auch als maligne Gliome zusammengefasst.

Glioblastome sind histopathologisch gekennzeichnet durch nukleäre Atypien, einen erhöhten Mitoseindex, Gefäßproliferate und Nekrosezonen (Behin et al., 2003). Die Glioblastome sind in zwei Kategorien unterteilbar. Zum einen die primären oder *de novo* Glioblastome, die ohne länger zurückliegende, vermutlich mit einem weniger malignen Tumor assoziierte vorherige Krankheitsgeschichte bereits als hochmaligne Tumore auftreten. Daneben die sekundären Glioblastome, die sich oft im Verlauf von mehreren Jahren und häufig nur retrospektiv wegen bereits längerer Antriebs- oder Gedächtnisstörungen, depressiver Symptome oder Persönlichkeitsveränderungen vermutet, aus niedriggradigeren Astrozytomen entwickeln (Kleihues and Ohgaki, 2000).

Obwohl bereits eine erhebliche Zahl genetischer Veränderungen in astroglialen Tumoren identifiziert wurde (Abbildung 1), ist das komplexe Zusammenspiel der einzelnen Mutationen weitgehend unverstanden. Zudem sind die bisherigen Ansätze z.B. PDGFR oder EGFR zu hemmen therapeutisch wenig wirksam gewesen (persönliche Kommunikation mit Wolfgang Wick zu PDGFR-Inhibitorstudien und (Prados et al., 2009; van den Bent et al., 2009)). In den letzten Jahren werden auch zunehmend epigenetische Modifikationen und Einflüsse anderer Moleküle wie z.B. der an der Genregulation beteiligten microRNAs (Chan et al., 2005) für die Gliombiologie diskutiert.

Differenzierte Astrozytome oder neuroepitheliale Vorläuferzellen

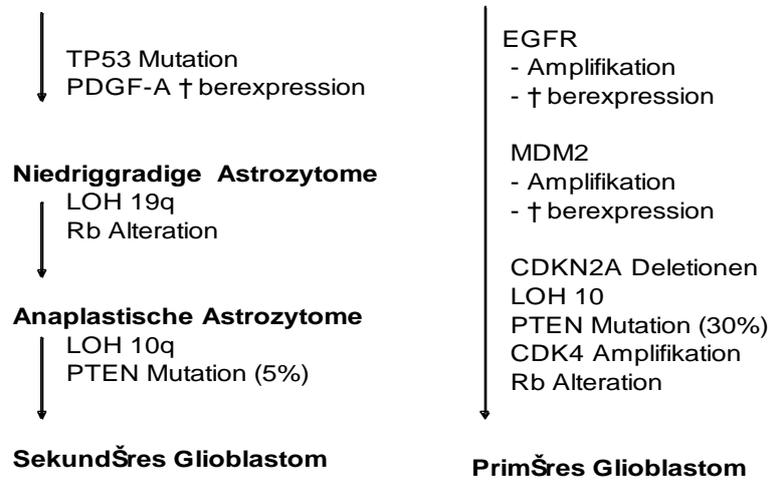


Abbildung 1: Klinisch und genetisch definierte Progressionswege zum Glioblastom (modifiziert nach Kleihues und Ohgaki)

Während das primäre Glioblastom sehr wahrscheinlich spontan entsteht, entwickelt sich das sekundäre GBM im Laufe weniger Jahre aus einem Astrozytom mit geringerer Malignität. Die unterschiedlichen Tumore sind durch distinkte Mutationen gekennzeichnet (CDK4: *cyclin-abhängige Kinase 4*; EGFR: *epidermal growth factor receptor*; LOH: *loss of heterozygosity*; MDM2: *mouse double minute 2*; PDGF-A: *platelet derived growth factor*; PTEN: *phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10*; Rb: *Retinoblastoma-Gen*; TP53: *Tumorsuppressorgen P53*).

1.1.3 Klinische Symptome

Die klinische Symptomatik bei Glioblastomen ist oft unspezifisch und entwickelt sich meist innerhalb von nur zwei bis vier Monaten. Charakteristische bzw. spezifische Frühsymptome sind nur schwer darstellbar. Die Leitsymptome sind meist auf die intrakranielle Druckerhöhung und eine lokale Hirnfunktionsstörung zurückzuführen. Die relative Häufigkeit verschiedener Symptome ist in Tabelle 1 zusammengefasst.

Kopfschmerzen, die durch den raumfordernden Prozess zustande kommen, entwickeln sich meist langsam über Wochen und Monate. Sie sind diffus, können aber auch auf der Seite der Tumorlokalisierung betont sein (Forsyth and

Posner, 1993). Sie zeigen wegen des nächtlichen intrakraniellen Druckanstiegs eine morgendliche Betonung und sind nur selten permanent. Die betroffenen Patienten können Wesens- oder Stimmungsveränderungen aufzeigen. Fehldeutungen dieser Symptome, beispielsweise mit einer verstärkten Müdigkeit als Ausdruck einer psychischen Belastung oder Depression, sind nicht selten. Dagegen führen epileptische Anfälle oder Hemiparesen, insbesondere wenn sie progredient sind, am ehesten zu einer Abklärung. Bei entsprechender Lage des Tumors kommen auch Seh- und Sprachstörungen vor. Schlaganfallartige Symptome sind oft eine Folge tumorbedingter intrazerebraler Blutungen.

Tabelle 1: Klinische Symptome von bösartigen Gliomen (DeAngelis, 2001)

Klinische Symptome von anaplastischen Gliomen und Glioblastomen

Kopfschmerzen	50%
Epileptische Anfälle	15-25%
Halbseitenlähmung	30-50%
Mentale Auffälligkeiten	40-60%

Bei verzögerter Diagnose kann es zu einer rasch voranschreitenden Verschlechterung des Allgemeinzustandes durch erhöhten intrakraniellen Druck und je nach Lage des Tumors zu lebensbedrohlicher Einklemmungssymptomatik kommen.

1.1.4 Diagnostik

Die Diagnostik maligner Gliome stützt sich neben der histopathologischen Sicherung vor allem auf die bildgebenden Verfahren. Die zerebrale Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) sind die wichtigsten nicht invasiven diagnostischen Hilfsmittel (Jacobs et al., 2005).

Ferner bieten Positronenemissionstomographie (PET) und Magnetresonanztomographie (MRS) die Möglichkeit über die morphologische Charakterisierung hinaus die metabolische Aktivität dieser Tumoren zu begutachten. Bei der PET handelt es sich um ein nuklearmedizinisches bildgebendes Verfahren, das mit hoher Empfindlichkeit Stoffwechselprozesse darstellen kann. Nekrose und Ödem lassen sich hier bei Wahl geeigneter Tracer, wie z.B. Thymidin oder Methionin, von stoffwechselaktiven Tumoranteilen unterscheiden. Mit Hilfe der MRS lassen sich Stoffwechselprodukte wie Cholin, N-Acetylaspartat, Kreatin oder Lactat nachweisen (Meyerand et al., 1999). Die Darstellung der metabolischen Aktivität des Tumors in der PET oder MRS kann Hinweise auf das Ansprechen des Tumors auf eine Therapie geben oder bei der Differentialdiagnose Tumorrezidiv *versus* durch Strahlentherapie verändertes, mutmaßlich wachsendes Tumorgewebe (z.B. eine Strahlennekrose) hilfreich sein (Jacobs et al., 2005). Strahlennekrosen sind in der CT und der MRT von Rezidiven oft kaum zu unterscheiden. Die funktionellen MRT (fMRT), bei der mit Hilfe von standardisierten Tests Sprachareale oder motorische Areale aufgrund unterschiedlicher paramagnetischer Eigenschaften oxygenierten und nicht-oxygenierten Hämoglobins detektiert werden, gewinnt zunehmend Bedeutung in der Vorbereitung zur Operation bzw. Biopsie, um funktionell bedeutsame Hirnareale besser einzugrenzen (Krings et al., 2001).

Unbehandelte Gliome können in der CT ein recht unterschiedliches Bild zeigen. Sie erscheinen im Allgemeinen als gemischt hypo-hyperdense Strukturen mit irregulären Grenzen. Nach Gabe von Kontrastmittel können sie sich als ring- oder girlandenförmige Zone um ein hypodenses Areal darstellen, wobei das hypodense Areal einer Nekrose entspricht. Die Kontrastmittel anreichernde Region entspricht einer Zone mit gestörter Blut-Hirn-Schranke und nicht unbedingt der maximalen Ausdehnung des Tumors (Kelly et al., 1987). Umgeben ist sie gewöhnlich von einem nicht Kontrastmittel anreichernden hypodensen Gebiet, das Ödem oder nicht Kontrastmittel-affinen Tumor repräsentiert (Abbildung 2).



Abbildung 2: CT-Morphologie eines höhergradigen hirneigenen Tumors
Ringförmige Kontrastmittelaufnahme mit hypodensem Randsaum und Verlagerung der
Mittellinie. Differentialdiagnostisch muss auch an einen Abszess gedacht werden.

Im Gegensatz zur CT nutzt die MRT magnetische Felder und hochfrequente elektromagnetische Wellen anstelle von Röntgenstrahlen. Die erzeugten Bilder unterscheiden sich je nach der sogenannten Gewichtung im Kontrast. Dabei wird eine Vielzahl an Gewichtungen unterschieden. Für die Diagnostik von Hirntumoren vorrangig von Bedeutung sind die Wichtungen T_1 , T_2 , *fluid attenuated inversion recovery* (FLAIR) und T_1 mit Gabe von paramagnetischem Kontrastmittel (z.B. Gadolinium-Komplexe). Tabelle 2 gibt einen Überblick über die unterschiedliche Darstellung von Hirnstrukturen in den Wichtungen T_1 und T_2 .

Tabelle 2: Signalintensität verschiedener Hirnstrukturen in den verschiedenen Wichtungen der Kernspintomographie

	T₂ Bild		
	hell	dunkel	wie Hirnsubstanz
T₁ Bild dunkel	z.B. Liquor, Ödem, Zyste, Hygrom	z.B. Schädelknochen, Luft = schwarz	z.B. Kopfhaut
hell	z.B. Fettgewebe, subakute/ chronische Blutung		
wie Hirnsubstanz	z.B. frische Blutung	z.B. Eisenablagerungen	z.B. Meningeom

Der Vergleich von MRT und CT hat gezeigt, dass die MRT die tatsächliche Ausdehnung von Hirntumoren besser darstellt als die CT (Ten Haken et al., 1992). Hier ist die MRT durch die entscheidend höhere Weichteilempfindlichkeit der CT deutlich überlegen. Allerdings werden auch in kernspintomographisch unauffälligen Arealen in Biopsien Tumorzellen gefunden (Earnest et al., 1988). Dies zeigt sich vor allem bei niedriggradigen Gliomen (Watanabe et al., 1992). Mit der MRT gelingt es geringe pathologische Plasmawasseransammlungen aus zerstörten Zellen im Parenchym zu detektieren, noch bevor die Blut-Hirn-Schranke angegriffen ist. T2-gewichtete Aufnahmen, auf denen flüssigkeitshaltige Strukturen signalreich erscheinen, sind deshalb für die Diagnose von Glioblastomen besonders hilfreich. Verwendet man das paramagnetische Gd-DTPA (Gadolinium-Diethylentriaminpentaessigsäure) als Kontrastmittel, werden mit der MRT Details über den Zustand der Blut-Hirn-Schranke und die (Neo-)vaskularisierung des Tumors detektiert (Abbildung 3).

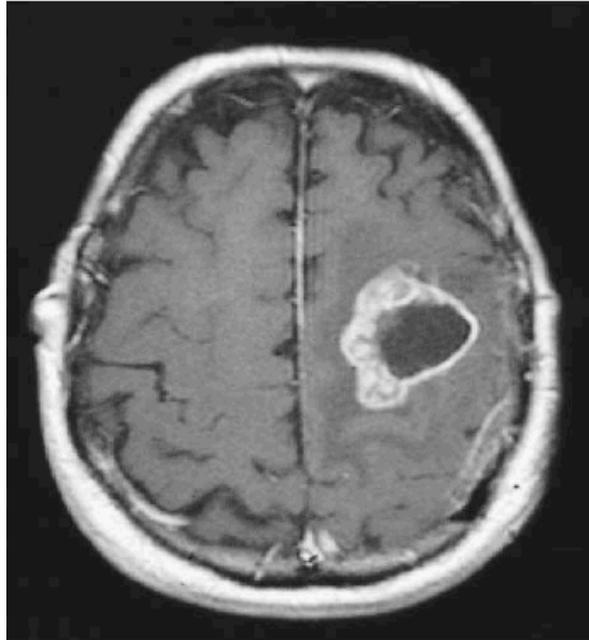


Abbildung 3: MRT-Bild in axialer Schnitfführung. Mit Gd-DTPA kontrastverstärkte T₁-Wichtung. Darstellung eines links fronto-parietal gelegenen Glioblastoms mit zentral hypointensem Kern, kontrastverstärktem Randsaum und hypointenser Randzone.

Auf T1-Aufnahmen findet sich oft ein charakteristischer, signalverstärkter Tumoring mit leichter Dämpfung im Kern, welche durch zentral nekrotisches Gewebe zustande kommt. Auf T2-Bildern werden dagegen Ödembereiche und Infiltrationszonen besser abgebildet (Wick and Kuker, 2004).

Aber auch die MRT kann nicht sicher zwischen hirneigenen Tumoren, Metastasen, Hirninfarkten, Abszessen, anderen infektiösen Prozessen und demyelinisierenden Erkrankungen differenzieren, so dass die pathologische Abklärung unverzichtbar und bei Verdacht auf einen Hirntumor oder bei diagnostischer Unsicherheit immer anzustreben ist.

1.1.5 Therapiestrategien und Prognose

Die derzeitige Standardtherapie bei Patienten mit malignen Gliomen besteht aus einer makroskopisch möglichst kompletten Tumorresektion, wenn diese ohne zusätzliches neurologische Defizit möglich ist bzw. Biopsie zur Diagnosesicherung und postoperativen Bestrahlung der erweiterten Tumorregion. Der Wert der Operation gegenüber der Biopsie wurde dabei nie in

einer qualitativ ausreichenden randomisierten Studie untersucht. Neben dem klinischen Eindruck zeigen jedoch Risikofaktoranalysen und eine Studie, in der mit Hilfe eines Fluoreszenzfarbstoffs, 5-Aminolävulinsäure, die Radikalität der Operation verbessert werden sollte, dass Patienten bei im übrigen gleicher Behandlung länger progressionsfrei bleiben und auch überleben, wenn der Tumor makroskopisch komplett entfernt wurde (Stummer et al., 2006).

Dabei ist die Bestrahlung die bedeutendste Therapiemodalität und verlängert das mediane Überleben um 6-8 Monate (Fine et al., 1993). Der Wert einer zusätzlichen Chemotherapie wurde lange Zeit kontrovers diskutiert (DeAngelis, 2001). Randomisierte Studien mit vorwiegend Nitrosoharnstoff-basierten Chemotherapien führten nicht zum gewünschten Erfolg. Metaanalysen von Chemotherapien zusätzlich zur Strahlentherapie zeigten einen medianen Überlebenszeitgewinn von 2 bis 3 Monaten (Fine et al., 1993; Stewart, 2002). Diese Ergebnisse schlossen zwar alle Alters- und Prognosegruppen ein, unterschieden jedoch nicht zwischen anaplastischen Astrozytomen, Glioblastomen und anaplastischen Oligodendrogliomen.

Ein Meilenstein in der Behandlung des Glioblastoms ist die kombinierte Therapie einer Bestrahlung mit dem Chemotherapeutikum Temozolomid (Temodal®). Die "European Organization for Research and Treatment of Cancer" (EORTC) belegte zusammen mit dem "National Cancer Institute of Canada" (NCIC) in einer randomisierten prospektiven Studie, dass eine Radiotherapie mit begleitender sowie erhaltender Behandlung mit Temozolomid das Überleben der Patienten verlängert (Stupp et al., 2005). In diese Studie (EORTC 26981/22981/NCIC CE.3 Studie, in der Folge „EORTC 26981“) wurden 573 Patienten mit neu diagnostiziertem, histologisch gesichertem Glioblastom eingeschlossen. Zum Zeitpunkt der Randomisierung lagen Biopsie oder Resektion weniger als 6 Wochen zurück. Die Studie sah zwei Behandlungsarme vor: Die Patienten wurden nach Zufall (A) einer alleinigen Strahlentherapie (RT) zugeführt oder (B) begleitend (konkomitant) zur Bestrahlung und im Anschluss erhaltend (adjuvant) mit Temozolomid behandelt (TMZ/RT) (Abbildung 4).

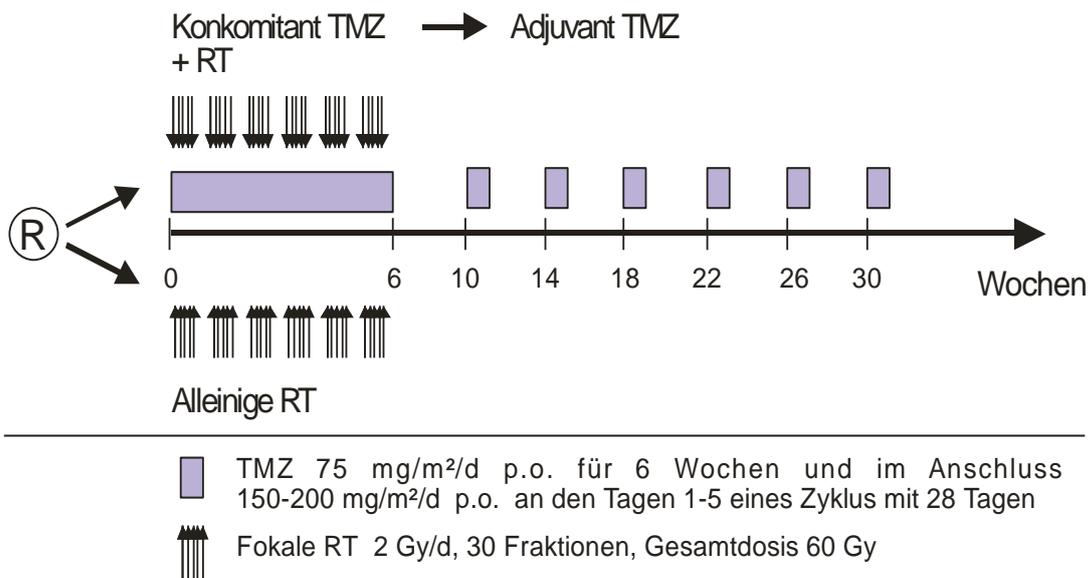


Abbildung 4: Behandlungsschema in der EORTC-Studie 26981. (TMZ: Temozolomid; RT: Strahlentherapie; p.o.: oral; Gy: Gray).

Die Strahlentherapie der erweiterten Tumorregion erfolgte in beiden Gruppen mit 60 Gray (Gy), fraktioniert in 30*2 Gy, verabreicht von Montag bis Freitag für 6-7 Wochen. Temozolomid wurde in dieser Zeit täglich, die Wochenenden eingeschlossen, in einer Dosierung von 75 mg/m² Körperoberfläche (KOF) verabreicht. Nach einer 4-wöchigen Pause erfolgte die erhaltende Gabe von 6 Zyklen Temozolomid mit einer Dosis von 150-200 mg/m² KOF an den Tagen 1-5 eines Zyklus mit 28 Tagen. Bei 73% der Patienten konnten alle 6 adjuvanten Zyklen Temozolomid-Chemotherapie beendet werden. Ursächlich für einen vorzeitigen Abbruch war in erster Linie eine Progression unter der Therapie. Die Toxizität der Therapie spielte eine geringere Rolle. Bei Tumorprogress war die Wahl der weiteren Therapie frei; d.h., nach Entscheidung des behandelnden Arztes. Als primärer Endpunkt der Studie wurde das Gesamtüberleben gewählt. In der Gruppe mit Radiochemotherapie betrug das mediane rezidivfreie Intervall 6,9 anstelle von 5 Monaten. Das mediane Überleben stieg von 12,1 auf 14,6 Monate. Besonders hervorzuheben ist die Steigerung der 2-Jahres-Überlebensrate durch die zusätzliche Therapie mit Temozolomid von 10% auf 26%

(Abbildung 5). Das Behandlungsschema aus der EORTC-Studie 26981 stellt heute den Standard in der Primärtherapie des Glioblastoms dar.

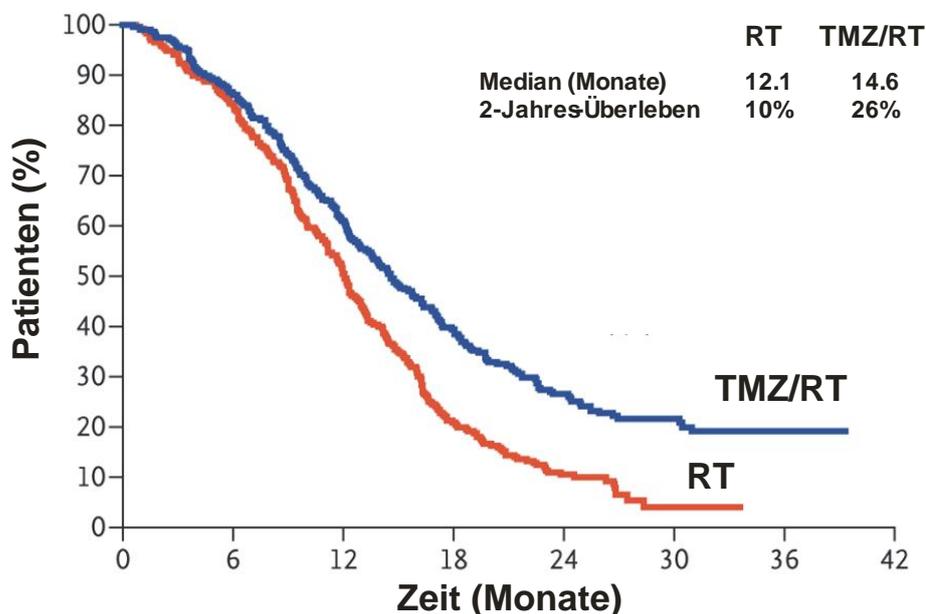


Abbildung 5: Kaplan-Meier Überlebensanalyse der EORTC-Studie 26981. Modifiziert nach (Stupp et al., 2005). RT: Radiotherapie; TMZ: Temozolomid

1.2 Temozolomid

Temozolomid ist ein alkylierendes Chemotherapeutikum. Es zeichnet sich durch ein breites therapeutisches Wirkspektrum aus, weist aber im Vergleich zu anderen Substanzen dieser Klasse eine geringere Toxizität auf. Chemisch handelt es sich um ein Imidazo-Tetrazinon, das erstmal 1984 synthetisiert wurde (Stevens et al., 1987). Pharmakokinetisch unterscheidet sich Temozolomid von anderen Alkylanzien. Die Substanz wird nach Resorption spontan in seinen aktiven Metaboliten MTIC (5-(3-Methyltriazin-1-yl)imidazol-4-carboxamid) umgewandelt. Eine hepatische Aktivierung und Metabolisierung finden nicht statt, der Metabolit entsteht durch Hydrolyse im physiologischen Milieu. Das Ergebnis ist eine gute Bioverfügbarkeit mit außerordentlich geringen interindividuellen Schwankungen. Zusammen mit der praktisch 100%-igen oralen Bioverfügbarkeit führt dies zu einer zuverlässig wirksamen oralen

Anwendbarkeit. Die Substanz geht schnell in das Liquorkompartiment über, in welchem sie im Gegensatz zu anderen Alkylanzien gut verfügbar ist. Diese gute Liquorgängigkeit, sowie die hohe Verfügbarkeit scheinen zur Wirksamkeit bei Hirntumoren beizutragen. Die dosislimitierende Toxizität von Temozolomid ist eine Knochenmarkdepression, vor allem in Form von Thrombozytopenie und/oder Neutro-/Lymphopenie. Diese unerwünschten Wirkungen sind in therapeutischer Dosierung leicht- bis mittelgradig ausgeprägt, meistens von kurzer Dauer und nach bisherigen Erkenntnissen nicht kumulativ (Stupp et al., 2005).

Das instabile MTIC wird zu AIC (5-Amino-imidazol-4-carboxamid) und zur eigentlichen reaktiven Verbindung, einem Methyldiazoniumion, umgesetzt. Der Angriff auf die Desoxyribonukleinsäure (DNS) der Zellen erfolgt überwiegend durch Methylierung des mittleren Guanins einer Guanin-Guanin-Guanin Sequenz an einem Sauerstoffatom der Stellung 6. Das so gebildete O6-Methylguanin hat eine zentrale Rolle für die zytotoxischen Effekte der Substanz (Roos et al., 2007). Hier kommt es bei Replikation des DNS-Strangs zum Einbau von Thymidin an Stelle von Cytosin. Diese Fehlpaarung wird vom *Mismatch-Repair* (MMR) System der Zelle erkannt, es kommt zu Strangbrüchen und zur Einleitung des programmierten Zelltods, der Apoptose genannt wird (Hickman and Samson, 1999). Ob Temozolomid auch andere Zelltodformen, Nekrose oder Autophagie induziert, ist Gegenstand aktueller Untersuchungen. Der Wirkung von Temozolomid steht ein Reparaturenzym entgegen, die O6-Methylguanin-Methyltransferase (MGMT) (Hermisson et al., 2006). Dieses Enzym repariert die durch Temozolomid verursachte DNS-Schädigung und verbraucht sich dabei selbst, so dass es auch als Suizid-Enzym bezeichnet wird. In den Tumoren kann der Promotor des MGMT-Gens in methylierter und somit inaktiver Form vorliegen. In diesen Tumoren wird kein MGMT gebildet und dies führt theoretisch zu deutlich besserem Ansprechen auf Temozolomid. In einer Subgruppenanalyse der EORTC-Studie 26981 zeigten Patienten mit methyliertem MGMT-Promotor bei Radio-Chemotherapie mit Temozolomid ein medianes Überleben von 21.7 Monaten im Vergleich zu 15.3 Monaten bei alleiniger Bestrahlung in der Primärbehandlung in dieser Subgruppe (Hegi et

al., 2005). Diese Daten legen eine prognostische Rolle des MGMT nahe. Bei Betrachtung des progressionsfreien Überlebens (PFS) wird der Unterscheid zwischen methyliertem Promotor und mutmaßlich inaktivem MGMT und nicht-methyliertem Promotor und mutmaßlich aktivem Enzym noch deutlicher. Patienten mit mutmaßlich aktivem MGMT profitierten in dieser Studie nicht von der Radiochemotherapie und zeigten progressionsfreie Überlebenszeiten, die denen alleiniger radiotherapierter Patienten entsprachen. Die Gesamtüberlebenszeiten waren zudem schlechter als in der Gruppe der primär radiotherapierten Patienten mit inaktivem MGMT, weil bei diesen Patienten die häufig aus Alkylanzien (wie z.B. Temozolomid in 56%) bestehende Rezidivtherapie auch nur einen geringeren Effekt hatte (Hegi et al., 2005).

1.3 Aspekte der Gliom-Biologie – Migration und Invasion

Glioblastome zeichnen sich durch lokales, destruierendes Wachstum aus. Nur sehr selten wird eine Metastasierung außerhalb des ZNS beobachtet (Schweitzer et al., 2001). Zu den malignen Eigenschaften des Glioblastoms zählt die Schaffung eines immunsuppressiven Mikromilieus (Gomez and Kruse, 2006), die Resistenz gegenüber pro-apoptotischen Stimuli und das infiltrierende Wachstum in das umliegende gesunde Hirngewebe (Lefranc et al., 2005; Wick et al., 2001). Die Invasion der Gliomzellen in das umliegende Hirngewebe ist ein multifaktorieller Prozess, der die Interaktion der Zellen mit der extrazellulären Matrix umfasst. Eine Voraussetzung für die Zellmigration ist die Adhäsion an die umgebende Matrix. Eine bedeutende Gruppe von Adhäsionsmolekülen sind Integrine. Dies sind transmembranäre Glykoproteine mit einer α - und β - Untereinheit. Integrine sorgen dabei nicht nur für eine Bindung an Komponenten der extrazellulären Matrix, sondern sind bei Bindung ihrer Liganden auch an der Signaltransduktion beteiligt, die zu den für Migration und Invasion wichtigen strukturellen und morphologischen Veränderungen der Gliomzellen führen (Hood and Cheresch, 2002). In Gliomen konnte das Integrin $\alpha_v\beta_3$ als Mediator von Migration und Invasion identifiziert werden (Wild-Bode et al., 2001b). Neben Zell-Zell und Zell-Matrix Interaktionen sind eine Reihe von

Enzymen bedeutend für die Migrationseigenschaften von Gliomzellen. Eine herausragende Bedeutung nehmen Matrix-Metalloproteinasen (MMP) ein. Dies sind proteolytische Enzyme, die Bestandteile der extrazellulären Matrix degradieren können und so den Invasionspfad für die Tumorzellen ebnen (Egeblad and Werb, 2002). Insbesondere die MMP-2 und MMP-9 sind in Gliomen überexprimiert und die besten Prädiktoren für die Wandereigenschaften der Gliomzellen (Wild-Bode et al., 2001b). Neben solchen in löslicher Form vorliegenden MMP können diese Enzyme auch an die Zellmembran gebunden sein, wie das *membrane type 1* (MT1)-MMP. Unter physiologischen Bedingungen wird die Aktivität von MMP durch *tissue inhibitors of matrixmetalloproteinases* (TIMP) eingeschränkt. Diese Inhibitoren der Migration sind in Gliomen herabreguliert (Wick et al., 2001). Weitere Prädiktoren für die Wandereigenschaften von Gliomzellen sind Proteine der B cell leukemia/lymphoma-like protein (Bcl)-2 Familie. Die Expression solcher Proteine konnte mit einer gesteigerten Migration, Invasion und Aktivität von MMP assoziiert werden (Wild-Bode et al., 2001b). Die Bcl-2 Proteinfamilie umfasst pro- und anti-apoptotische Mitglieder. Je nach Expressionsmuster sind diese Proteine somit auch mögliche Determinanten einer erhöhten Resistenz gegenüber pro-apoptotischen Stimuli, indem sie das Apoptoseprogramm hemmen. Dadurch entgehen migrierende Tumorzellen dem programmierten Zelltod nach Lösung aus ihrem Zellverband.

Die Bestrahlung des Glioblastoms ist unverzichtbarer Bestandteil der Therapie. Allerdings konnte *in vitro* und in einem Ratten-Gliommodell *in vivo* gezeigt werden, dass die subletale Bestrahlung von Gliomzellen zu einer Steigerung der Migration und Invasion der Gliomzellen führt (Wick et al., 2002; Wild-Bode et al., 2001a): durch die Bestrahlung steigt die Expression pro-migratorischer MMP-2, MMP-9, MT1-MMP und von Integrin $\alpha_v\beta_3$ an, während die von TIMP-2 abnimmt. Die Expression von Proteinen der Bcl-2 Familie verschiebt sich hin zu einem anti-apoptotischen Muster. Im 9L-Gliommodell in der Ratte förderte die Bestrahlung die Tumordissemination und Satellitenbildung. Dieses Phänomen wurde auch bei einer Radiotherapie von präformierten experimentellen Gliomen im Gehirn der Maus beobachtet (Tabatabai et al., 2006).

In einer Folgestudie konnten diese unerwünschten pro-invasiven Effekte einer Bestrahlung durch Temozolomid antagonisiert werden (Wick et al., 2002). Dabei hemmt Temozolomid die Induktion von MMP und Integrin $\alpha_v\beta_3$ und die Abnahme von TIMP-2. In dieser Arbeit konnte ein weiterer Mechanismus entschlüsselt werden: durch die Bestrahlung wurde in Gliomzellen die *focal adhesion kinase* (FAK) induziert. Dieses Protein ist an der Vernetzung von Signalen von Integrinen und Rezeptoren von Wachstumsfaktoren beteiligt und fördert so die Migration (Sieg et al., 2000). Die Behandlung mit Temozolomid führt wiederum zu einer Spaltung von FAK mit Hilfe von Caspasen. Dies sind Proteasen, die im programmierten Zelltod (Apoptose) eine Schlüsselstellung einnehmen.

Diese molekularen Interaktionen und die mutmaßliche unerwünschte proinvasive Wirkung der Radiotherapie *in vitro* und *in vivo* sind die Grundlage für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit.

1.4 Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit werden die räumlichen Rezidivmuster von Glioblastompatienten aus der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 verglichen. Dabei soll untersucht werden, ob die Rezidivmuster bei Patienten, die ausschließlich mit Strahlentherapie behandelt wurden und von Patienten, die eine kombinierte Radiochemotherapie mit Temozolomid, also konkomitant sowie im Anschluss an die Bestrahlung adjuvant Temozolomid erhielten, voneinander abweichen. Die zweiarmlige EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 stellt eben diese beiden Patientenkollektive gegenüber.

Zu diesem Zweck werden MRT-Bilder von 63 Patienten untersucht. Die Tumorlokalisierung bei Erstdiagnose bzw. Rezidiv wird softwaregestützt in ein Standardgehirn übertragen und die Entfernung von Primärtumor und Rezidiv standardisiert berechnet. Auf diese Weise lässt sich die Lokalisation von Ausgangstumor und Tumorrezidiv gegenüberstellen.

Die Untersuchung folgender Hypothesen ist Ziel dieser Arbeit:

1. In der Gruppe der Patienten, die mit konkomitanter Radiochemotherapie behandelt wurden, ergeben sich mehr lokale Rezidive, da Temozolomid die proinvasiven Eigenschaften der therapeutischen Strahlentherapie hemmt.
2. Es ergeben sich bei der kombinierten Therapie aufgrund der verlängerten progressionsfreien Zeit mehr distante Rezidive.

II Patienten und Methoden

2.1 Patientenauswahl

Für die vorliegende Arbeit wurden 112 Patienten aus Lausanne, Rotterdam, Toronto, Tübingen, Utrecht und Wien, welche im Rahmen der EORTC-Studie 26981 (Stupp et al., 2005) behandelt wurden, untersucht. Zunächst wurde anhand der klinischen Daten und neuroradiologischen Befunde das Datum der Erstdiagnose der Glioblastomerkrankung und der Zeitpunkt der ersten Rezidivdarstellung ermittelt. Die entsprechenden Schädel-MRT, die zur Erst- bzw. Rezidivdiagnose führten, wurden analysiert. Die MRT-Datensätze lagen in digitaler Form auf CD-ROM bzw. als Ausdrücke in höchster Qualität vor. Da die Bildgebungsverfahren in den Studienorten bei Diagnose und im Rezidiv z.T. nicht einheitlich waren oder da keine MRT-Darstellung durchgeführt wurde, mussten 40 Patienten ausgeschlossen werden. Neun weitere Patienten mussten aufgrund der anatomischen Lage des Tumors von der weiteren Analyse ausgeschlossen werden, da sich diese nicht in die MRT-Matrize des Auswertungsprogramms MRlcro übertragen ließen.

Es konnten letztendlich die Daten von 63 Patienten ausgewertet werden. 33 dieser Studienteilnehmer wurden im Studienarm der alleinigen Strahlentherapie (RT) und 30 Patienten im kombinierten Studienarm (TMZ/RT) behandelt. Bei allen Patienten stellte sich das Glioblastom als primär unifokal Kontrastmittel aufnehmender Tumor da.

2.2 Analyse der Tumorlokalisierung mittels MRlcro

Alle 63 Patienten zeigten ein unifokal Kontrastmittel aufnehmendes supratentoriell gelegenes Glioblastom bei Erstdiagnose.

Zur Darstellung der genauen Tumorlokalisation kam die Software MRlcro der *University of South Carolina* in Columbia, USA zur Anwendung (Rorden and Brett, 2000).

Diese kostenlose Software steht Nutzern von Computern mit Windows- oder Linux-Betriebssystem zur Verfügung um MRT-Bilder zu betrachten oder MRT, fMRT oder PET zu analysieren (<http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html>). Mit Hilfe von MRlcro lässt sich ein genormtes menschliches Gehirn in allen Schnittebenen darstellen und mit Hilfe verschiedener Werkzeuge eine Läsion dreidimensional in diese Standardvorlage übertragen. Zur Analyse unserer Glioblastompatienten wurden transversale T1 gewichteten MRT-Sequenzen genutzt. Als Standardvorlage zur Übertragung der Tumoren kam die T1 gewichtete MRT Vorlage des Montreal Neurological Institute zur Anwendung (www.bic.mni.mcgill.ca/cgi/icbm_view). MRlcro wurde ursprünglich für neuropsychologische Fragestellungen entwickelt und hier auch in der Breite eingesetzt. Mit der Software können *Regions of Interest* (ROI) (z.B. Läsionen in Korrelation zu neuropsychologischen Defiziten) bestimmt und Berechnungen durchgeführt werden. Die Übertragung der Tumorlokalisation aus den originalen Patientenbildern der vorliegenden Studie in ein Standardgehirn erlaubt statistische Berechnungen mit MRlcro, welche für die Fragestellung dieser Arbeit essentiell sind.

Durch die präzise Darstellung anatomischer Details in MRlcro ist eine akkurate Übertragung des Tumors vom Original- MRT in das Norm- MRT möglich. Mit den in der Software zur Verfügung gestellten Hilfsmitteln wurde der Umriss des kontrastmittel aufnehmenden Tumors in die MRT-Vorlage gezeichnet und so eine ROI markiert (Abbildung 6 und 7).

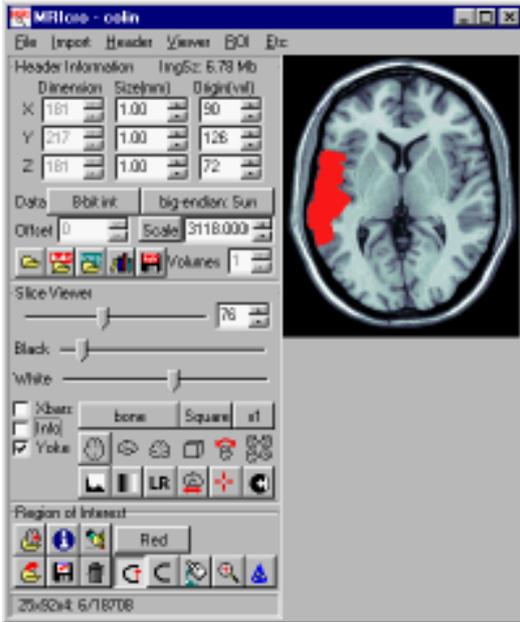
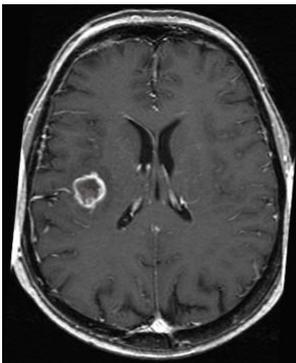


Abbildung 6: Beispiel für die Erstellung einer *Region of Interest* in MRIcro aus der Beschreibung der Software.



Original



Übertragung in MRIcro

Abbildung 7: Beispiel für die Erstellung einer ROI in der vorliegenden Arbeit. Die linke Original-Abbildung stellt ein rechtshemisphärisch gelegenes Kontrastmittel aufnehmendes Glioblastom im MRT dar. Die rechte Abbildung zeigt die Übertragung des Tumors in die entsprechende transversale Schnittebene von MRIcro.

Um die Größe und Ausdehnung des jeweiligen Tumors möglichst genau darzustellen, wurden zuvor transversale MRT-Schnitte des Standardgehirns des Programms festgelegt. Der Tumor wurde in alle entsprechenden Schnittebenen eingezeichnet. Zur Anwendung kamen die transversalen MRT-Koordinaten z -37, -29, -21, -13, -4, 4, 13, 21, 30, 38, 47, 55, 64, 72, 76, 85, 93,

110, 119 und 127 mm des Standard-MRTs (einzusehen unter: www.bic.mni.mcgill.ca/cgi/icbm_view).

Für jeden Patienten wurden in MRICro zwei Datensätze angelegt. Der eine Datensatz enthielt die *ROI* des Ausgangstumors, der zweite Datensatz die *ROI* des Rezidivtumors. Die Übertragung der Tumore und Erstellung der *ROI* vom original Patienten-MRT in MRICro wurde unabhängig voneinander von zwei Personen (A.-C. E. & W.W.) durchgeführt. Klinische Angaben über die Art der Therapie oder die Zuteilung zu einem entsprechenden Studienarm wurden vor diesem Teil der Arbeit nicht eingesehen, d.h. die Übertragung der Daten erfolgte verblindet bezüglich der Therapieform.

Mit Hilfe dieser beiden Datensätze eines Patienten konnte die Lage des Rezidivtumors im Verhältnis zum Ausgangstumor von MRICro berechnet werden. Abbildungen 8 und 9 zeigen exemplarisch die Subtraktion der Tumorumfänge zur Berechnung der überlappenden und nicht überlappenden Tumoranteile.

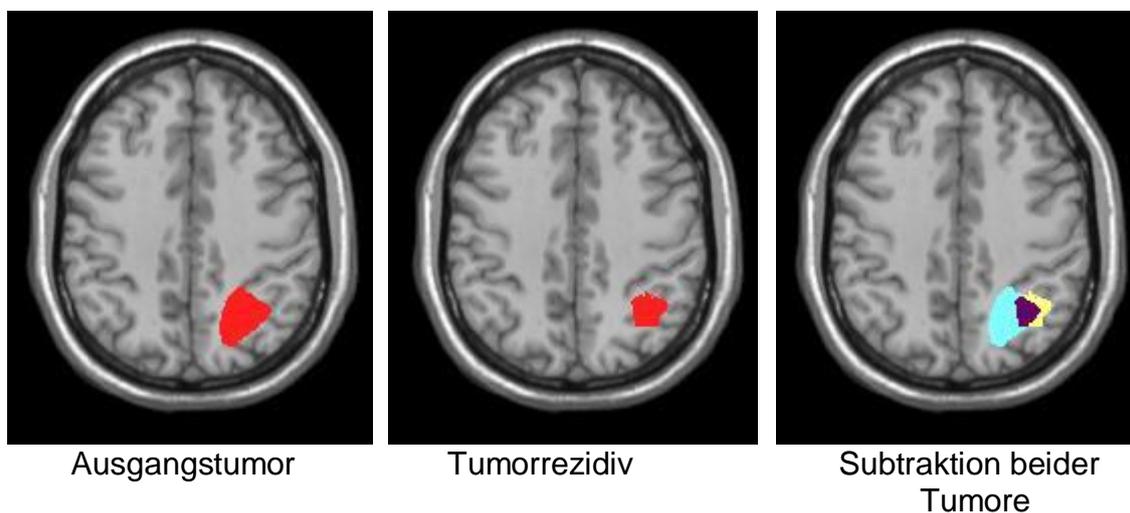


Abbildung 8: Übertragung des Ausgangstumors und des Rezidivtumors in Form von *Regions of Interest* in die gleiche Schnittebene der transversalen MRICro Vorlage (rot = axiale Tumorausdehnung). Die verschiedenen ROIs können übereinander gelegt und voneinander subtrahiert werden (violett = Tumorlokalisierung im Rezidiv identisch zum

Ausgang; gelb = Tumorlokalisierung im Rezidiv, nicht jedoch im Ausgangsbefund; türkis = Tumorlokalisierung bei Diagnose, nicht jedoch im Rezidiv).

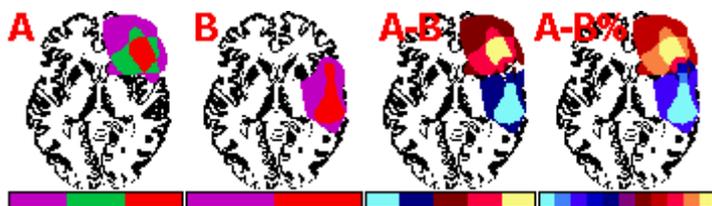


Abbildung 9: Das "ROI comparisons" Submenü von MRlcro ermöglicht auch die Subtraktion der kumulativen Lokalisationen von verschiedenen Patientenpopulationen (A bzw. B). Es besteht die Möglichkeit der absoluten oder prozentualen Berechnung der sich überlappenden bzw. nicht übereinanderliegenden Bereiche und deren Darstellung mittels einer Farbskala.

Der prozentuale Anteil der überlappenden Bezirke (A-B%) ist mit 5 verschiedenen Farben dargestellt, von dunkelrot (Differenz 1 bis 20%) bis gelb (Differenz 81 bis 100%). Hellblau entspricht somit 81-100%B.

Die Farbe violett in der Mitte der Farbskala stellt die Regionen mit identischem prozentualen Anteil von A und B dar (0%). Die Abbildung entstammt aus der Beschreibung von MRlcro.

2.3 Statistik

Das Tumolvolumen und dessen Schwerpunkt wurden mit MRlcro über einen integrierten Algorithmus für jedes MRT berechnet. Ein Rezidivtumor wurde als distantes Rezidiv definiert, wenn sich mindestens 50 Prozent der Tumormasse außerhalb der Grenzen der Kontrastmittelaufnahme des Primärtumors darstellte mit zusätzlich zwei Zentimetern Differenz der Schwerpunkte.

Ein zweiseitiger t-Test wurde durchgeführt, um zu bestimmen, ob durch die zwei verschiedenen Therapien die Größe des Rezidivtumors und die Distanz

zwischen Schwerpunkt des Ausgangstumors und des Rezidivtumors beeinflusst werden.

Eine Stichprobe von 30 Patienten pro Gruppe ist dabei ausreichend, um mit einer Teststärke von 80 Prozent eine Verschiebung der Schwerpunkte um mindestens 20 Prozent statistisch sicher zu erfassen. Diese 20 Prozent werden als klinisch relevant angesehen.

III Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Das mittlere Zeitintervall zwischen Ausgangs-MRT und Erstdiagnose lag in beiden Untersuchungsarmen bei 0,2 Monaten. Das mittlere Zeitintervall zwischen Ausgangs-MRT und dem das Rezidiv erstdarstellenden MRT lag im Studienarm der alleinigen Strahlentherapie bei 5,2 Monaten und im Studienarm Radiatio mit konkomitanter Temozolomid Therapie bei 7,1 Monaten. Diese Daten zeigen keine relevante Abweichung von denen der gesamten Studienpopulation der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 (5 versus 6,9 Monate) (Stupp et al., 2005).

In Tabelle 3 sind die Daten der in dieser Arbeit untersuchten Patienten zu Alter, MGMT-Promotormethylierungsstatus, progressionsfreiem und Gesamtüberleben zusammengefasst, Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der Patienten. Daraus wird ersichtlich, dass die hier untersuchte Population in den angegebenen Parametern ebenfalls repräsentativ ist.

Tabelle 3: Charakteristika der in dieser Arbeit untersuchten Glioblastompatienten (*...) entspricht entsprechenden Vergleichswerte aus (Stupp et al., 2005), bzw. (Hegi et al., 2005).

	Bestrahlung n=33 (*286)	Bestrahlung plus TMZ n=30 (*287)
	Betrag (95% Konfidenzintervall)	
Mittleres Alter (Jahre)	56 (*57)	56 (*56)
MGMT Promotor (methyliert/ nicht methyliert)	10/12 (*46/54)	10/13 (*46/60)
Progressionsfreies Überleben (Monate)	5,2 (4,2 - 5,5) (*5,0)	7,1 (5,8 - 8,2) (*6,9)
Medianes Gesamtüberleben (Monate)	12 (11,2 - 13,2) (*12,1)	14,4 (13,4 - 16,8) (*14,6)

3.2 Analyse der Rezidivmuster - Lokalisation und Größe der Glioblastome

In den Abbildungen 11 und 12 wird die weit verbreitete räumliche Verteilung der Glioblastome in den zwei Behandlungsarmen dargestellt. Die Tumore befinden sich im Temporal-, Parietal-, und Frontallappen, sowohl links- als auch rechtshemisphärisch. Eine bevorzugte Lokalisation des Primärtumors oder des Tumorwachstums lässt sich nicht ausmachen. Abbildung 10 zeigt exemplarisch jeweils einen Primär- und Rezidivtumor in 3 verschiedenen Ebenen bei lokalem und distantem Rezidiv an.

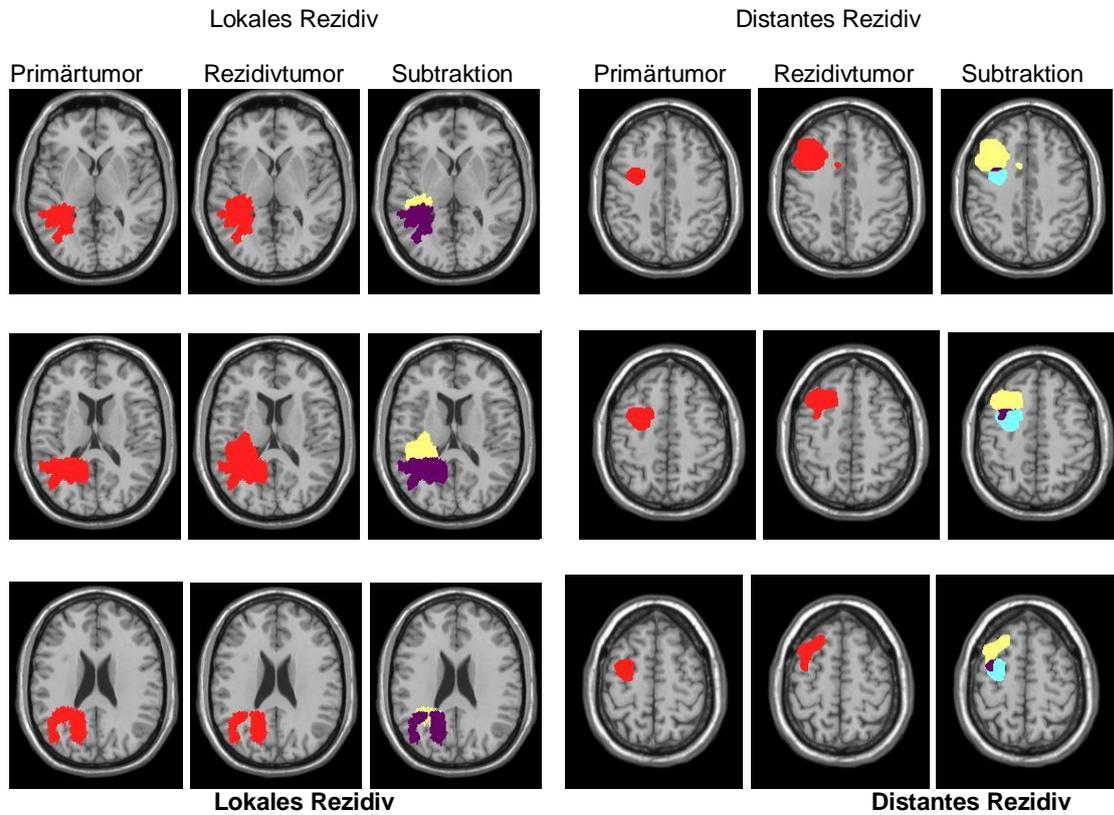


Abbildung 10: Dargestellt wird exemplarisch jeweils ein Primärtumor, der Rezidivtumor und die Subtraktion beider Tumorlokalisationen in 3 verschiedenen Schnittebenen bei lokalem oder distantem Rezidiv. (Schnittebenen 76, 85 und 93 und 110, 119 und 127 bei lokalem bzw. distantem Rezidiv; rot: Primär- bzw. Rezidivtumor, violett: Wachstum des Rezidivs im Bereich in dem sich auch der Primärtumor ausdehnte, türkis: kein Wachstum des Rezidivtumors im Bereich des Primärtumors, gelb: Wachstum des Rezidivtumors außerhalb des Bereichs des Primärtumors).

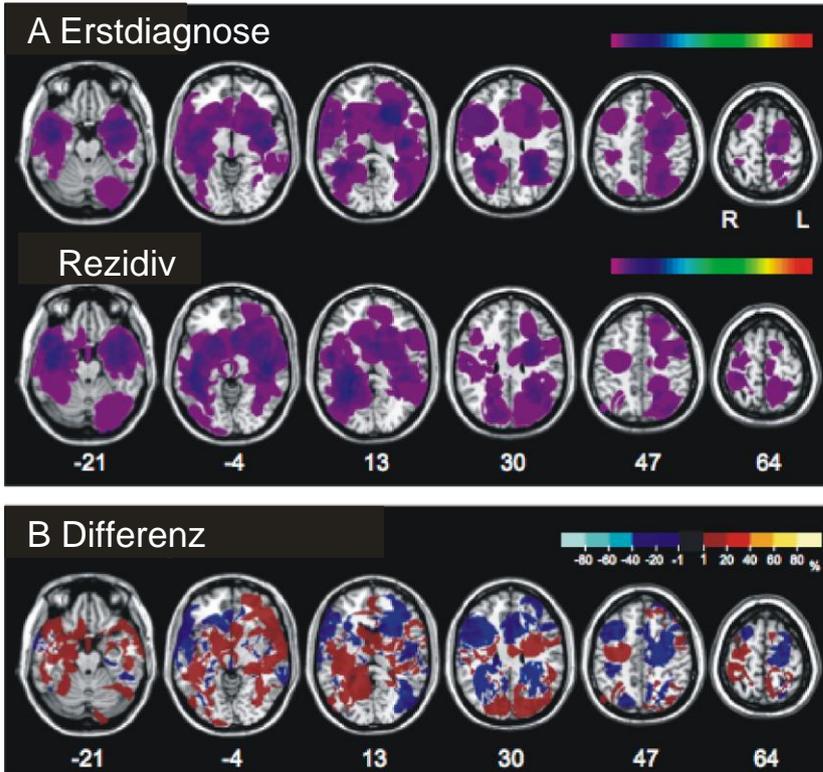


Abbildung 11: (A) Kumulative Tumorlokalisationen der Patienten, die alleine mit Strahlentherapie behandelt wurden ($n=33$) bei Diagnose und im Rezidiv. Die Anzahl überlappender Tumorlokalisationen ist mit verschiedenen Farben veranschaulicht. Die Häufigkeit der Überlappung ist somit farblich codiert und reicht von einer (violett) bis 33 Überlappungen (rot). **(B)** Subtraktion der Tumorlokalisationen bei Erstdiagnose und im Rezidiv bei Patienten, die mit Strahlentherapie behandelt wurden. Dargestellt sind die übereinandergelegten Tumorlokalisationen der einzelnen Patienten im Ausgangsbild abzüglich der Lokalisation im Rezidiv. Der prozentuale Anteil der überlappenden Läsionen ist mit 5 verschiedenen Farben dargestellt, von dunkelrot (Differenz 1 bis 20%) bis weiss-gelb (Differenz 81 bis 100%). Mit den anderen Farben erfolgt jeweils eine Abstufung um 20%. Die Farben von dunkelblau (Differenz -1 bis -20%) bis hellblau (-81% bis -100%) markieren Regionen die vor der Therapie häufiger betroffen waren als danach im Rezidiv. Die z-Koordinaten von transversalen Schnitten des Standardgehirns des Montreal Neurological Institutes sind als Zahlenwerte angegeben.

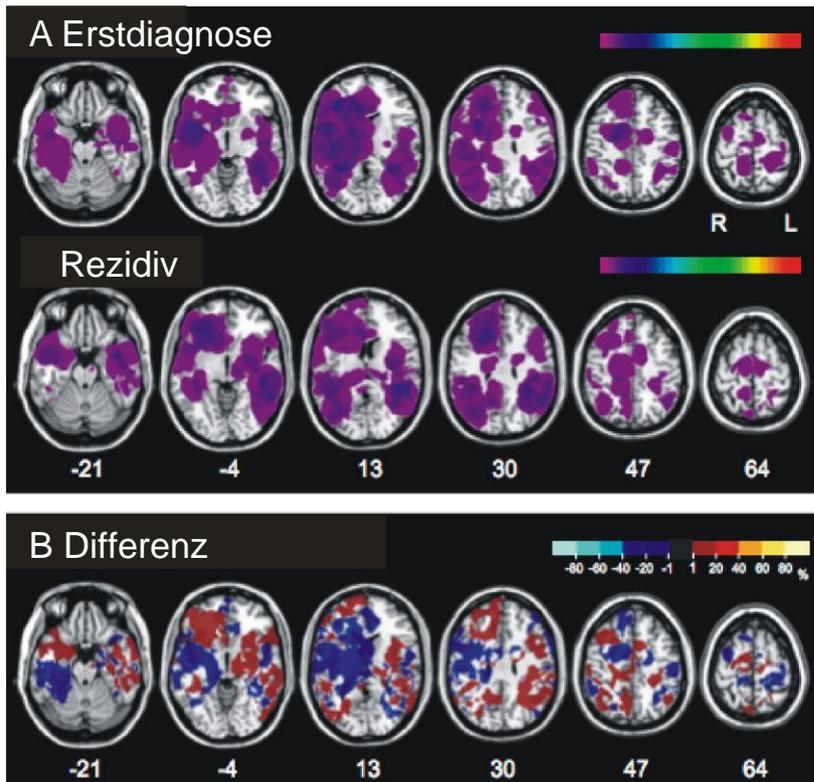


Abbildung 12: (A) Kumulative Tumorlokalisationen der Patienten, die mit Strahlentherapie und Temozolomid behandelt wurden (n=30) bei Diagnose und im Rezidiv. Die Anzahl überlappender Tumorlokalisationen ist mit verschiedenen Farben veranschaulicht. Die Häufigkeit der Überlappung ist somit farblich codiert und reicht von einer (violett) bis 30 Überlappungen (rot). (B) Subtraktion der Tumorlokalisationen bei Erstdiagnose und im Rezidiv bei Patienten, die mit Strahlentherapie und Temozolomid behandelt wurden. Die Darstellung entspricht der Abbildung 11. Die z-Koordinaten von transversalen Schnitten des Standardgehirns des Montreal Neurological Institutes sind als Zahlenwerte angegeben.

Um die Wachstumsrichtung bzw. die Größenveränderung der Tumore nach Therapie in den Behandlungsarmen Bestrahlung *versus* Bestrahlung mit konkomitanter Temozolomidtherapie gegenüberzustellen, wurde der Ausgangstumor vom darübergerlegten Tumorrezidiv subtrahiert (Rorden and Karnath, 2004).

In keinem der Behandlungsarme zeigte sich eine relevante Veränderung der Tumorlokalisation vor und nach der Therapie (Abbildungen 11 und 12).

Die Überlappungsdichte nach der Subtraktion lag unter 40 Prozent Überlappung, so dass davon auszugehen ist, dass die anatomischen Unterschiede zwischen Ausgangs- und Rezidivmessung klein und nicht spezifisch sind.

Das Tumolvolumen der Rezidivtumore gemessen in Volumenpixel war 1,32-mal (+/- 0,36) größer als der Ausgangstumor im Bestrahlungsarm und 1,29-mal (+/- 0,37) größer im kombinierten Behandlungsarm (Abbildung 13 und 14 zur Illustrierung). Demzufolge unterscheidet sich die Größe der Rezidivtumoren zwischen den beiden Behandlungsarmen nicht ($p=0,81$).

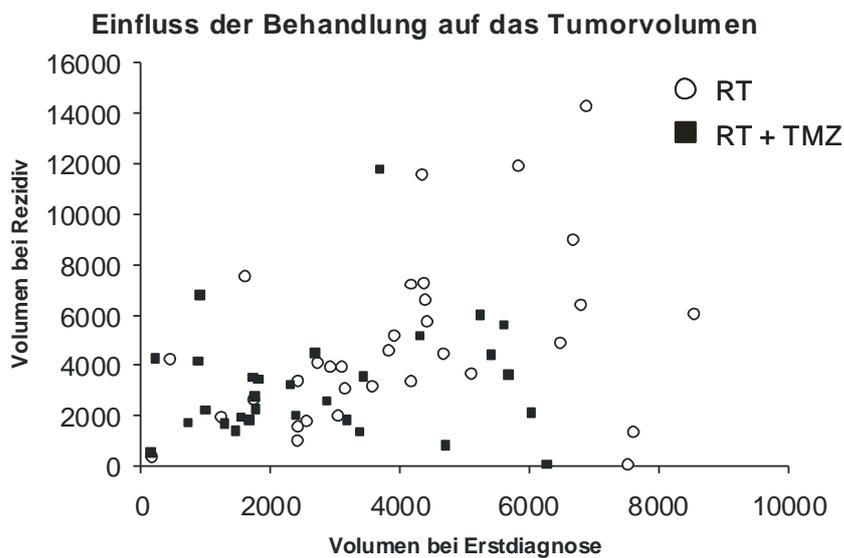


Abbildung 13: Einfluss der Behandlungsmodalitäten auf das Tumolvolumen bei Erstdiagnose und im Rezidiv. Die Größe der Läsion bei Erstdiagnose (x-Achse) ist gegen die Größe im Rezidiv (y-Achse) aufgetragen. Die Punktwolken der beiden Therapie-Arme (RT: Bestrahlung und RT+TMZ: Bestrahlung plus Temozolomid) überschneiden sich dabei.

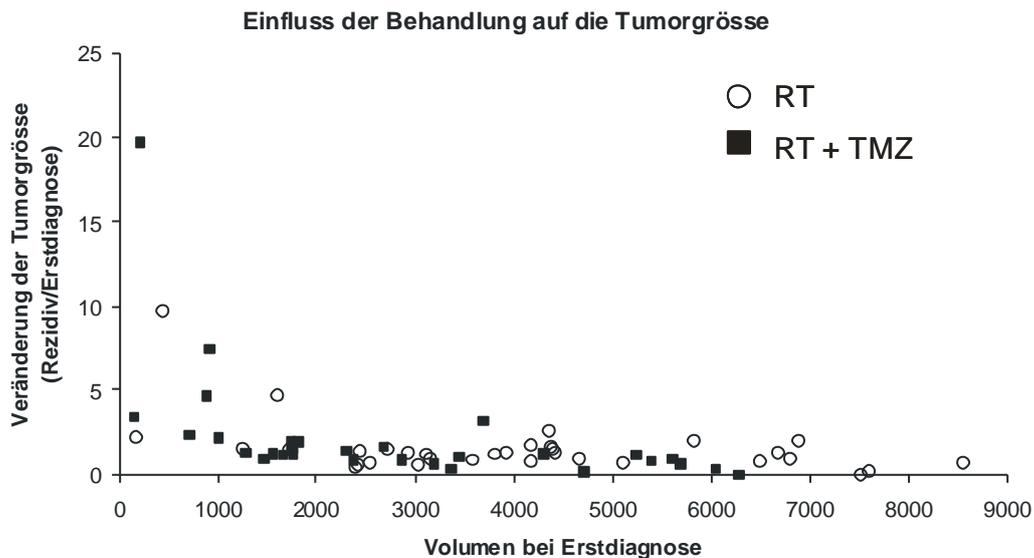


Abbildung 14: Einfluss der Behandlungsmodalitäten auf das Tumolvolumen bei Erstdiagnose und im Rezidiv. Dabei ist die Tumorgöße bei Erstdiagnose (x-Achse) gegen das Verhältnis der Tumorgöße im Rezidiv zur Größe bei Erstdiagnose (y-Achse) aufgetragen. Wiederum sind die Punktwolken der verschiedenen Therapiearme nicht zu trennen. (RT: Bestrahlung und RT+TMZ: Bestrahlung plus Temozolomid).

3.3 Einfluss der Therapie auf die Lageveränderung der Tumore

Die Ermittlung des Tumorschwerpunktes erlaubt eine Aussage darüber, ob die Behandlung eine Auswirkung auf das Rezidivtumorstadium hat.

Für jeden Patienten wurde die Entfernung zwischen Tumorschwerpunkt des Ausgangstumors und des Tumorrezidivs berechnet. So lassen sich kleine Lageveränderungen (z.B. bei Tumorwachstum oder Rückgang) und größere Lageveränderungen (z.B. bei der Entstehung neuer Satellitenherde) darstellen (Abbildung 15). Um herauszufinden, ob die zwei Therapien Einfluss auf die Verschiebung des Tumorschwerpunktes haben, wurde ein zweiseitiger t-Test durchgeführt. Hierbei konnte keine signifikante Differenz ($p = 0,387$) zwischen den Behandlungsarmen ermittelt werden mit einer mittleren Lageveränderung von 11,67 mm ($\pm 0,42$) im Bestrahlungsarm und einer mittleren

Lageveränderung von 12,03 mm (+/- 0,39) im kombinierten Behandlungsarm. Ein zusätzlicher Vergleich auf Fall-zu-Fall Basis stellte das gleiche Ergebnis dar.

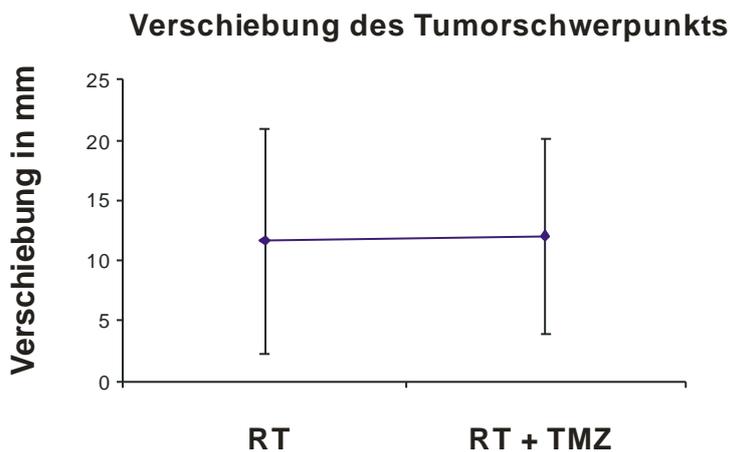


Abbildung 15: Verschiebung der Tumorschwerpunkte im Rezidiv gegenüber dem Ausgangstumor (y-Achse; Angabe in mm) in Abhängigkeit der Therapie-Arme (x-Achse). Dargestellt ist der Mittelwert der jeweiligen Verschiebung und die Standardabweichung. (RT: Bestrahlung und RT+TMZ: Bestrahlung plus Temozolomid).

Die Häufigkeit entfernter Rezidive lag bei 23 Prozent im Bestrahlungsarm und bei 18 Prozent im kombinierten Behandlungsarm. Diese Tendenz mit einer verminderten Rate distanter Rezidive im konkomitanten Behandlungsarm (B) war nicht signifikant ($\chi^2=1,18$, $p=0,056$).

IV Diskussion

Glioblastome stellen einen der bösartigsten Tumore des zentralen Nervensystems dar, welche binnen weniger Monate zum Tod des betroffenen Patienten führen. Trotz der Entwicklung neuer Therapiemodalitäten konnte in den vergangenen Jahren kein Durchbruch für eine deutliche Überlebenszeitverlängerung erzielt werden. Für die betroffenen Patienten, sowie die behandelnden Ärzten ist die Dringlichkeit neue Wege der Therapie zu erforschen offensichtlich. Auch nur die geringste Aussicht auf ein längeres progressionsfreies Überleben bei guter neurologischer Funktion und eine bessere Lebensqualität bleibt, solange ein kurativer Ansatz nicht gefunden ist, Ziel der klinischen Forschung.

Dabei werden große klinische Studien zunehmend mit Fragestellungen zur Tumorbiologie verknüpft. Die EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 stellte nicht zuletzt wegen der großen Zahl eingeschlossener Patienten auch die Bedeutung der MGMT-Promotormethylierung für das Ansprechen auf die Therapie und das Überleben heraus (Hegi et al., 2005). Es ist somit nur konsequent, möglichst umfassende Sekundärinformationen aus solchen groß angelegten klinischen Studien zu gewinnen.

Ziel dieser Arbeit war, zwischen den Behandlungsarmen der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 mögliche Unterschiede im Rezidivmuster von Glioblastomen zu detektieren. Diese Fragestellung ergibt sich aus präklinischen Untersuchungen. Eine subletale Strahlentherapie hat proinvasive und somit die Migration von Gliomzellen fördernde Eigenschaften (Wick et al., 2002; Wild-Bode et al., 2001a). Diese unerwünschten pro-invasiven Effekte einer Bestrahlung können durch Temozolomid antagonisiert werden (Wick et al., 2002). Zusätzlich scheinen die Wachstumsmuster von Glioblastomen mit ihrer molekularen Signatur in Verbindung zu stehen (Phillips et al., 2006). So könnte die Darstellung mehr lokaler Rezidive in der Gruppe der Patienten, die mit konkomitanter Radiochemotherapie behandelt wurden, einen Hinweis auf die Hemmung der pro-invasiven Eigenschaften der Bestrahlung durch Temozolomid darstellen. Andererseits könnte die Darstellung eines größeren

Anteils distant gelegener Rezidive auf die Verlängerung des progressionsfreien Intervalls durch die Temozolomid-Behandlung zurückzuführen sein. Eine Antwort auf diese Frage hat klinische Relevanz, beispielsweise für die Sequenz einer Bestrahlung und Chemotherapie, sowie die Wahl der Rezidivtherapie, die bei lokoregionalen Rezidiven möglicherweise häufiger eine neurochirurgische Intervention beinhaltet und bei distanten Rezidiven eher eine Re-Bestrahlung erlaubt.

In der vorliegenden Arbeit konnte nun kein statistisch relevanter Unterschied in der Rezidivlokalisierung zwischen den beiden Studienarmen nachgewiesen werden. Die Häufigkeit entfernter Rezidive lag bei 23 Prozent im Bestrahlungsarm und bei 18 Prozent im kombinierten Behandlungsarm und war statistisch nicht signifikant.

In älteren Analysen stellen sich 5 bis 10 Prozent der rezidivierenden bzw. progressiven Glioblastome außerhalb der primären Tumorausdehnung dar (Hess et al., 1994; Massey and Wallner, 1990). In der vorliegenden Arbeit liegt die Häufigkeit entfernter Rezidive bei 20 Prozent. Errechnet wurde dies durch einen paarweisen Vergleich der Schwerpunkte von Ausgangstumor und Rezidivtumor in der untersuchten Patientenpopulation aus der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0. Gründe für die höhere Rate distanter Rezidive in der vorliegenden Arbeit könnten unterschiedliche Vermessungsmethoden sein, zumal da die Messungen in den älteren Studien nicht auf MRT basieren.

In dieser Arbeit konnte keine Auswirkung der Behandlung mit Temozolomid auf die Größe bzw. die Distanz des Tumorrezidivs festgestellt werden. Auch der MGMT Status korrelierte nicht mit der Entstehung lokaler oder distanter Rezidive. Dies könnte darauf hinweisen, dass molekulare und zelluläre Faktoren unabhängig vom Therapiemodus die Rezidivmuster in Glioblastomen beeinflussen. Ein weiterer limitierender Faktor kann die weiterhin kurze Überlebenszeit der Patienten sein, so dass mögliche Effekte durch das vorzeitige Versterben der Patienten nicht zum Tragen kommen.

Als neues Hilfsmittel für die Analyse von Hirntumorlokalisationen wurde die Software MRIcro eingesetzt. In dieser Arbeit war die Rezidivmuster-Analyse mit

Hilfe der Software MRlcro technisch durchführbar. Das Programm MRlcro eignet sich zur Analyse von Hirntumoren durch seine detailgetreue Darstellung anatomischer Details und die Möglichkeit der dreidimensionalen Übertragung von Läsionen in alle Schichtebenen des dargestellten genormten menschlichen Gehirns. Da in der EORTC-Studie 26981 Computertomographie und Magnetresonanztomographie nebeneinander als Bildgebungsmodalitäten zulässig und nicht alle Bilder verfügbar waren, konnte keine größere Patientenzahl in die Analyse eingeschlossen werden. Hierzu sind komplette MRT-Datensätze von Ausgangsbefund und der Rezidivdarstellung nötig. Die Lokalisation und Ausdehnung des Rezidivtumors hat entscheidenden Einfluss auf die Therapieoptionen einer erneuten neurochirurgischen Resektion, einer immer häufiger durchgeführten Re-Bestrahlung oder einer lokalen Chemotherapie. Hier ist die Rezidivmusteranalyse für die klinische Forschung von großem Interesse und somit kann diese Technik auch in Zukunft bei ähnlichen Fragestellungen eine wichtige Rolle spielen. Daher könnte sich diese Analyse zum Beispiel mittels MRlcro in der weiteren Entwicklung neuer Therapiestrategien gegenüber Hirntumoren als hilfreich darstellen.

V Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die Rezidivmuster von Glioblastomen von 63 Patienten aus der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 aus den Behandlungsarmen „Bestrahlung“ und „Bestrahlung sowie begleitende und erhaltende Chemotherapie mit Temozolomid“ miteinander verglichen. Die Stichprobe der hier analysierten Patienten ist in den wesentlichen Punkten repräsentativ für das Gesamtkollektiv der Studie. Ziel war die Analyse eines möglichen Unterschieds der Rezidivmuster in Abhängigkeit der Behandlung. Zur Unterstützung der Analyse wurde das Computerprogramm MRlcro eingesetzt.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Daten zeigen die Durchführbarkeit der Rezidivmusteranalyse mit Hilfe von MRlcro. Ein Effekt der Behandlung mit Temozolomid konkomitant zur Bestrahlung auf Größe, Lokalisation und Distanz zwischen dem Ausgangs- und dem Rezidivtumor in der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0 wurde nicht nachgewiesen.

Besondere Relevanz erhält die mit dieser Arbeit etablierte Methode durch den verstärkten Einsatz von Therapien, welche die Invasivität der Tumorzellen direkt oder wie die Angiogeneseinhibitoren möglicherweise indirekt beeinflussen. Bei Studien zu diesen Therapien sollte die hier beschriebene Methode z.B. als sekundäres Zielkriterium prospektiv Eingang in die Studiendurchführung und -auswertung finden.

VI Anhang

Tabelle 5: Übersicht über die in dieser Arbeit eingeschlossenen Patienten aus der EORTC-Studie 26981/22981 NCIC CE3.0.

Studienarm RT		Studienarm RT/TMZ	
Initialen	Geburtsdatum	Initialen	Geburtsdatum
AC	29.04.1958	AR	20.06.1955
CJ	23.03.1951	DA	02.05.1937
BD	06.01.1938	FV	16.01.1937
BR	16.03.1948	RA	03.11.1948
SP	20.06.1947	JJ	21.06.1949
WF	28.01.1939	KH	13.07.1946
WW	31.12.1939	ML	16.12.1962
CA	16.02.1940	S-KE	03.08.1951
EY	19.07.1965	WM	04.11.1940
FC	05.03.1944	DS	23.12.1923
JB	03.01.1950	GN	02.09.1953
JC	07.10.1953	MK	24.10.1960
LM	08.12.1951	PG	05.03.1937
MB	26.11.1934	RT	12.05.1948
NB	09.02.1937	DU	18.02.1959
NS	06.06.1935	FK	10.09.1940
BV	22.02.1971	GK	03.04.1953
GD	24.06.1947	GS	02.01.1945
HP	27.03.1953	HJ	26.01.1948
MG	11.08.1949	KA	24.06.1954
PA	06.07.1957	MK	14.09.1948
RE	12.10.1931	SH	12.01.1940
SH	16.10.1944	SM	06.11.1943
SR	08.06.1942	BG	06.11.1954
SS	30.06.1955	BJ	02.02.1941
WK	10.05.1955	BP	10.11.1940
DR	26.06.1965	EP	26.04.1954
GS	15.04.1938	KJ	11.07.1941
HJ	27.03.1939	LK	05.11.1939
HM	29.01.1961	NBV	20.10.1940
KV	05.02.1940		
NJ	15.01.1949		
VD	06.01.1948		

VII Literaturverzeichnis

- Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444: 756-60.
- Behin A, Hoang-Xuan K, Carpentier AF, Delattre JY. Primary brain tumours in adults. *Lancet* 2003; 361: 323-31.
- Beier D, Hau P, Proescholdt M, Lohmeier A, Wischhusen J, Oefner PJ, et al. CD133(+) and CD133(-) glioblastoma-derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles. *Cancer Res* 2007; 67: 4010-5.
- Berger F, Gay E, Pelletier L, Tropel P, Wion D. Development of gliomas: potential role of asymmetrical cell division of neural stem cells. *Lancet Oncol* 2004; 5: 511-4.
- Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 2005; 65: 6029-33.
- DeAngelis LM. Brain tumors. *N Engl J Med* 2001; 344: 114-23.
- Earnest Ft, Kelly PJ, Scheithauer BW, Kall BA, Cascino TL, Ehman RL, et al. Cerebral astrocytomas: histopathologic correlation of MR and CT contrast enhancement with stereotactic biopsy. *Radiology* 1988; 166: 823-7.
- Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 161-74.
- Fine HA, Dear KB, Loeffler JS, Black PM, Canellos GP. Meta-analysis of radiation therapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults. *Cancer* 1993; 71: 2585-97.
- Forsyth PA, Posner JB. Headaches in patients with brain tumors: a study of 111 patients. *Neurology* 1993; 43: 1678-83.
- Gomez GG, Kruse CA. Mechanisms of malignant glioma immune resistance and sources of immunosuppression. *Gene Ther Mol Biol* 2006; 10: 133-146.
- Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 997-1003.
- Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, Masterman-Smith M, Geschwind DH, Bronner-Fraser M, et al. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 15178-83.
- Hermisson M, Klumpp A, Wick W, Wischhusen J, Nagel G, Roos W, et al. O6-methylguanine DNA methyltransferase and p53 status predict temozolomide sensitivity in human malignant glioma cells. *J Neurochem* 2006; 96: 766-76.
- Hess CF, Schaaf JC, Kortmann RD, Schabet M, Bamberg M. Malignant glioma: patterns of failure following individually tailored limited volume irradiation. *Radiother Oncol* 1994; 30: 146-9.
- Hess KR, Broglio KR, Bondy ML. Adult glioma incidence trends in the United States, 1977-2000. *Cancer* 2004; 101: 2293-9.

- Hickman MJ, Samson LD. Role of DNA mismatch repair and p53 in signaling induction of apoptosis by alkylating agents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 10764-9.
- Hood JD, Cheresch DA. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 91-100.
- Jacobs AH, Kracht LW, Gossmann A, Ruger MA, Thomas AV, Thiel A, et al. Imaging in neurooncology. *NeuroRx* 2005; 2: 333-47.
- Kelly PJ, Daumas-Duport C, Kispert DB, Kall BA, Scheithauer BW, Illig JJ. Imaging-based stereotaxic serial biopsies in untreated intracranial glial neoplasms. *J Neurosurg* 1987; 66: 865-74.
- Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61: 215-25; discussion 226-9.
- Kleihues P, Ohgaki H. Phenotype vs genotype in the evolution of astrocytic brain tumors. *Toxicol Pathol* 2000; 28: 164-70.
- Krings T, Reinges MH, Erberich S, Kemeny S, Rohde V, Spetzger U, et al. Functional MRI for presurgical planning: problems, artefacts, and solution strategies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70: 749-60.
- Lefranc F, Brotchi J, Kiss R. Possible future issues in the treatment of glioblastomas: special emphasis on cell migration and the resistance of migrating glioblastoma cells to apoptosis. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2411-22.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 114: 97-109.
- Massey V, Wallner KE. Patterns of second recurrence of malignant astrocytomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990; 18: 395-8.
- Meyerand ME, Pipas JM, Mamourian A, Tosteson TD, Dunn JF. Classification of biopsy-confirmed brain tumors using single-voxel MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20: 117-23.
- Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 2005; 109: 93-108.
- Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, Forrest WF, Soriano RH, Wu TD, et al. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 2006; 9: 157-73.
- Prados MD, Chang SM, Butowski N, DeBoer R, Parvataneni R, Carliner H, et al. Phase II study of erlotinib plus temozolomide during and after radiation therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme or gliosarcoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 579-84.
- Prados MD, Levin V. Biology and treatment of malignant glioma. *Semin Oncol* 2000; 27: 1-10.
- Radhakrishnan K, Mokri B, Parisi JE, O'Fallon WM, Sunku J, Kurland LT. The trends in incidence of primary brain tumors in the population of Rochester, Minnesota. *Ann Neurol* 1995; 37: 67-73.
- Roos WP, Batista LF, Naumann SC, Wick W, Weller M, Menck CF, et al. Apoptosis in malignant glioma cells triggered by the temozolomide-induced DNA lesion O6-methylguanine. *Oncogene* 2007; 26: 186-97.

- Rorden C, Brett M. Stereotaxic display of brain lesions. *Behav Neurol* 2000; 12: 191-200.
- Rorden C, Karnath HO. Using human brain lesions to infer function: a relic from a past era in the fMRI age? *Nat Rev Neurosci* 2004; 5: 813-9.
- Ruiz i Altaba A, Sanchez P, Dahmane N. Gli and hedgehog in cancer: tumours, embryos and stem cells. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 361-72.
- Schweitzer T, Vince GH, Herbold C, Roosen K, Tonn JC. Extraneural metastases of primary brain tumors. *J Neurooncol* 2001; 53: 107-14.
- Sieg DJ, Hauck CR, Ilic D, Klingbeil CK, Schaefer E, Damsky CH, et al. FAK integrates growth-factor and integrin signals to promote cell migration. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 249-56.
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 5821-8.
- Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401.
- Stevens MF, Hickman JA, Langdon SP, Chubb D, Vickers L, Stone R, et al. Antitumor activity and pharmacokinetics in mice of 8-carbamoyl-3-methyl-imidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one (CCRG 81045; M & B 39831), a novel drug with potential as an alternative to dacarbazine. *Cancer Res* 1987; 47: 5846-52.
- Stewart LA. Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *Lancet* 2002; 359: 1011-8.
- Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 2006; 7: 392-401.
- Tabatabai G, Frank B, Mohle R, Weller M, Wick W. Irradiation and hypoxia promote homing of haematopoietic progenitor cells towards gliomas by TGF-beta-dependent HIF-1alpha-mediated induction of CXCL12. *Brain* 2006; 129: 2426-35.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 987-96.
- Ten Haken RK, Thornton AF, Jr., Sandler HM, LaVigne ML, Quint DJ, Fraass BA, et al. A quantitative assessment of the addition of MRI to CT-based, 3-D treatment planning of brain tumors. *Radiother Oncol* 1992; 25: 121-33.
- van den Bent MJ, Brandes AA, Rampling R, Kouwenhoven MC, Kros JM, Carpentier AF, et al. Randomized phase II trial of erlotinib versus temozolomide or carmustine in recurrent glioblastoma: EORTC brain tumor group study 26034. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1268-74.
- Watanabe M, Tanaka R, Takeda N. Magnetic resonance imaging and histopathology of cerebral gliomas. *Neuroradiology* 1992; 34: 463-9.
- Wick W, Kuker W. Brain edema in neurooncology: radiological assessment and management. *Onkologie* 2004; 27: 261-6.

- Wick W, Platten M, Weller M. Glioma cell invasion: regulation of metalloproteinase activity by TGF-beta. *J Neurooncol* 2001; 53: 177-85.
- Wick W, Tonn JC, Weller M. Primäre intrakranielle und spinale Tumoren. *Therapie und Verlauf Neurologischer Erkrankungen* 2007.
- Wick W, Wick A, Schulz JB, Dichgans J, Rodemann HP, Weller M. Prevention of irradiation-induced glioma cell invasion by temozolomide involves caspase 3 activity and cleavage of focal adhesion kinase. *Cancer Res* 2002; 62: 1915-9.
- Wild-Bode C, Weller M, Rimner A, Dichgans J, Wick W. Sublethal irradiation promotes migration and invasiveness of glioma cells: implications for radiotherapy of human glioblastoma. *Cancer Res* 2001a; 61: 2744-50.
- Wild-Bode C, Weller M, Wick W. Molecular determinants of glioma cell migration and invasion. *J Neurosurg* 2001b; 94: 978-84.

VIII Danksagung

Ich möchte mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen der Dissertation beigetragen haben.

Insbesondere danke ich Herrn Prof. Dr. Wolfgang Wick für die Überlassung des Themas der Dissertation, sowie für die Unterstützung, Hilfsbereitschaft und Geduld, die er mir jederzeit entgegen brachte.

Frau Prof. Dr. Ulrike Ernemann danke ich für die Zweitberichterstattung.

Für die Unterstützung in Computer- und Statistikfragen, sowohl bei der Datenerfassung als auch bei der statistischen Auswertung gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Dr. Karnath.

Weiterhin möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Martin J. van den Bent für die freundliche Überlassung der Studiendaten in Rotterdam und Utrecht, sowie bei allen weiteren Mitarbeitenden in den verschiedenen EORTC-Zentren für die Bereitstellung des auszuwertenden Bildmaterials bedanken.

Nicht zuletzt sei auch meiner Familie und insbesondere meinem Ehemann Günter ein herzliches Dankeschön gesagt. Eure Unterstützung und eurer Zuspruch haben mich auf dem Weg zum Ziel begleitet und so den erfolgreichen Abschluss der Arbeit ermöglicht.