

Aus der Klinik für Neurochirurgie

(Prof. Dr. med. V. Rohde)

im Zentrum Neurologische Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

---

Chromosomale Veränderungen astrozytärer Tumoren  
in der komparativen genomischen Hybridisierung (CGH) und deren  
prognostischer Einfluss

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Tobias Bürger

aus

Wernigerode

Göttingen 2013

**Dekan:** Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

**I. Berichtstatterin:** PD Dr. med. A. Gutenberg

**II. Berichtstatter/in:** Prof. Dr. rer. nat. P. Burfeind

**III. Berichtstatter/in:** Prof. Dr. rer. nat. B. Reuss

**Tag der mündlichen Prüfung:** 12.03.2014

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>4</b>
1.1 Gliome – Definition.....	4
1.2 Gliome – Klassifikation.....	4
1.3 Astrozytäre Tumoren.....	4
1.3.1 Pilozytisches Astrozytom (WHO-Grad I).....	4
1.3.2 Diffuses Astrozytom (WHO-Grad II).....	5
1.3.3 Anaplastisches Astrozytom (WHO-Grad III) .....	5
1.3.4 Glioblastoma multiforme (WHO-Grad IV) .....	5
1.4 Komparative genomische Hybridisierung (CGH).....	8
1.5 Astrozytäre Tumoren – chromosomale Aberrationen .....	9
1.5.1 Chromosomale Aberrationen diffuser Astrozytome (WHO-Grad II).....	9
1.5.2 Chromosomale Aberrationen anaplastischer Astrozytome (WHO-Grad III).....	10
1.5.3 Chromosomale Aberrationen in Glioblastomen (WHO-Grad IV) .....	10
1.6 Fragestellung .....	12
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>13</b>
2.1 Herkunft des Tumormaterials .....	13
2.2 Material.....	13
2.3 Methoden.....	18
2.3.1 Agarose-Gelelektrophorese.....	18
2.3.2 Photometrische DNS-Konzentrationsbestimmung .....	19
2.3.3 Komparative Genomische Hybridisierung .....	20
2.4 Bildaufnahme und rechnergestützte Auswertung .....	28
2.4.1 Bildaufnahme am Fluoreszenzmikroskop .....	28
2.4.2 Bildauswertung: Erstellen von CGH-Karyogrammen .....	29
2.5 Erstellen eines Profildiagrammes und Ratioprofiles .....	30
2.6 Nomenklatur .....	30
2.7 Von der Auswertung ausgeschlossene Bereiche .....	31
2.8 Statistische Auswertung.....	31

<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>32</b>
3.1 Klinisch-pathologische Parameter .....	32
3.1.1 Alter .....	32
3.1.2 Geschlecht.....	33
3.2 Einfluss klinisch-pathologischer Parameter auf die rezidivfreie Zeit .....	33
3.2.1 Einfluss des WHO-Grades auf die rezidivfreie Zeit .....	33
3.2.2 Einfluss des Alters auf die rezidivfreie Zeit.....	34
3.3 Einfluss klinisch-pathologischer Parameter auf die Gesamtüberlebenszeit.....	35
3.3.1 Einfluss des WHO-Grades auf die Gesamtüberlebenszeit .....	35
3.3.2 Einfluss des Alters auf die Gesamtüberlebenszeit .....	36
3.4 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome .....	37
3.4.1 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II.....	37
3.4.2 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad III .....	39
3.4.3 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad IV .....	40
3.4.4 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II-IV .....	41
3.5 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen .....	44
3.5.1 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad II .....	44
3.5.2 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad III .....	46
3.5.3 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad IV .....	49
3.6 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen.....	51
3.6.1 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad II .....	51
3.6.2 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad III .....	52
3.6.3 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad IV .....	54
3.7 Identifizierung onkogenetischer Baummodelle.....	56
3.7.1 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II .....	56
3.7.2 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad III .....	57

3.7.3 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad IV.....	58
3.7.4 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II-IV...	59
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>60</b>
4.1 Methodische Stärken und Schwächen der CGH .....	61
4.2 Wertigkeit klinischer Parameter als prognostischer Faktor.....	63
4.3 Chromosomale Imbalancen diffuser Astrozytome und ihre Bedeutung .....	65
4.3.1 Häufige chromosomale Zugewinne und ihre prognostische Bedeutung .....	65
4.3.2 Häufige chromosomale Verluste und ihre prognostische Bedeutung.....	73
4.4 Definition unterschiedlicher Wege der zytogenetischen Evolution von Gliomen durch onkogenetische Baummodelle .....	83
4.4.1 -6q-Cluster .....	83
4.4.2 -13q/-22q/-14q/-15q-Cluster .....	84
4.4.3 -9p/+20/+19p-Cluster .....	85
4.4.4 +7/-10-Cluster.....	85
4.4.5 +8q/-4q-Cluster.....	86
4.5 Zukünftige Entwicklungen .....	87
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>88</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>91</b>
<b>7 Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>105</b>
<b>8 Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>106</b>
<b>A Anhang.....</b>	<b>108</b>
A.1 Klinische Profile der in der Studie untersuchten Patienten .....	108
A.2 Chromosomale Profile der in der Studie untersuchten Tumoren .....	112
A.3 Häufigkeit chromosomaler Aberrationen einzelner Chromosomenarme sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit ....	117
A.4 Rezidivfreie Zeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit signifikantem Einfluss .....	120
A.5 Statistische Signifikanz des Einflusses chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit .....	123

---

A.6 Gesamtüberlebenszeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit signifikantem Einfluss .....	126
---	-----

## Abkürzungsverzeichnis

Formelgrößen wurden mit den SI-Einheiten abgekürzt. Die Abkürzung gebräuchlicher Wörter der deutschen Sprache erfolgte gemäß Duden.

<b>AA</b>	Anaplastisches Astrozytom
<b>ABLIM1</b>	Actin binding LIM protein 1
<b>Agarose-LE</b>	Agarose-low electroendosmosis
<b>AIB1</b>	Amplified in Breast Cancer-1
<b>ANOVA</b>	Analysis of variance
<b>ANXA7</b>	Annexin A7
<b>Aqua bidest.</b>	Aqua bidestillata
<b>ARF</b>	Alternate reading frame
<b>AURKA</b>	Aurorakinase A
<b>CAS-Gen</b>	Cellular apoptosis susceptibility
<b>CCD</b>	Charge-coupled Device
<b>CCNU</b>	Chlorethyl-Cyclohexyl-Nitroso-Urea (Lomustin)
<b>CDK</b>	Cyclin-dependente Kinase
<b>CDKN</b>	CDK-Inhibitor (cyclin-dependent kinase inhibitor)
<b>CGH</b>	Vergleichende genomische Hybridisierung (comparative genomic hybridization)
<b>DAPI</b>	4,6-Diamidino-2-phenylindol
<b>dATP</b>	Desoxyadenosintriphosphat
<b>dCTP</b>	Desoxycytidintriphosphat
<b>dGTP</b>	Desoxyguanosintriphosphat
<b>DCS</b>	D cell sorting
<b>dim</b>	diminished
<b>DMBT1</b>	Deleted in malignant brain tumors 1
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic acid
<b>DNase I</b>	Desoxyribonuklease I
<b>DNS</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>dNTP</b>	Desoxyribonukleosidtriphosphat
<b>dTTP</b>	Desoxythymidintriphosphat
<b>dUTP</b>	Desoxyuridintriphosphat

<b>EcoRI</b>	Escherichia coli RI
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraessigsäure
<b>EGFR</b>	Epidermal growth factor receptor
<b>EMP3</b>	Epithelial membrane protein 3
<b>enh</b>	enhanced
<b>EORTC</b>	European Organization for Research and Treatment of Cancer
<b>FGF5</b>	Fibroblast growth factor 5
<b>FISH</b>	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
<b>FITC</b>	Fluoresceinisothiocyanat
<b>FOX</b>	Forkhead box protein
<b>GBM</b>	Glioblastoma multiforme
<b>GIST</b>	Gastrointestinaler Stromatumor
<b>HCl</b>	Salzsäure (Chlorwasserstoff)
<b>IDH1</b>	Isocitrat-Dehydrogenase 1
<b>ISCN</b>	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
<b>LGI1</b>	Leucine-rich, glioma inactivated 1
<b>MAPK15</b>	Mitogen-aktivierte Proteinkinase 15
<b>MARK4</b>	MAP/mikrotubule affinity-regulating kinase 4
<b>Mb</b>	Megabasen
<b>MBIP</b>	MAP3K12 binding inhibitory protein 1
<b>MDM</b>	Mouse double minute/Murine double minute
<b>MET</b>	Hepatocyte growth factor receptor
<b>MYBL2</b>	V-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like 2
<b>MYC</b>	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog
<b>NCIC</b>	National Cancer Institute of Canada
<b>NF1</b>	Neurofibromin 1
<b>NF-<math>\kappa</math>B-Gen</b>	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
<b>p16</b>	Protein 16
<b>p53</b>	Protein 53
<b>PCNA</b>	Proliferating cell nuclear antigen
<b>PCR</b>	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
<b>PDGF-A</b>	Platelet-derived growth factor A
<b>PI3K</b>	Phosphoinositid-3-Kinase
<b>PIK3R1</b>	Phosphatidylinositol-3-kinase regulatory subunit alpha



---

<b>PIP3</b>	Phosphatidylinositol-(3,4,5)-Triphosphat
<b>PTEN</b>	Phosphatase and tensin homolog
<b>PYGB</b>	Human brain glycogen phosphorylase
<b>RB1</b>	Retinoblastom-Protein
<b>rev ish</b>	Reverse-in-situ-Hybridization
<b>rpm</b>	Revolutions per minute
<b>SSC</b>	Saline sodium citrate
<b>STK15</b>	Serine/threonine kinase 15
<b>TBE</b>	Tris/Borat/EDTA
<b>Tris</b>	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
<b>TRITC</b>	Tetramethylrhodamin-5-(6)-isothiocyanat
<b>UV</b>	Ultraviolettstrahlung
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>ZNS</b>	Zentrales Nervensystem

# 1 Einleitung

## 1.1 Gliome – Definition

Unter der Bezeichnung Gliome fasst man alle von der Neuroglia ausgehenden primären Tumoren des Zentralen Nervensystems (ZNS) zusammen. Darunter fallen die Astrozytome, Oligodendrogliome, Mischgliome (Oligoastrozytome), Ependymome und auch die Tumoren des Plexus choroideus (Louis et al., 2007). Gliome sind mit mehr als 70 % die häufigsten primären Tumoren des ZNS (Ohgahki und Kleihues, 2009).

## 1.2 Gliome – Klassifikation

Basierend auf histologischen Merkmalen wie Zelldichte, Kernmorphologie, Mitosen, Nekrosen und Endothelproliferationen teilt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) Hirntumoren in vier histologische Tumorgrade ein, wobei ein niedrigerer Grad eine bessere Prognose impliziert (Louis et al., 2007). Dabei enthalten die verschiedenen WHO-Grade trotz einer Zuordnung zu denselben Gruppen mitunter histogenetisch völlig unterschiedliche Entitäten (Feiden und Feiden, 2008). Exemplarisch seien hier die häufigsten Tumoren astrozytärer Herkunft aufgeführt: Das pilozytische Astrozytom (WHO-Grad I), das diffuse Astrozytom (WHO-Grad II), das anaplastische Astrozytom (AA, WHO-Grad III) und das Glioblastoma multiforme (GBM, WHO-Grad IV) (Louis et al. 2007). Pilozytische und diffuse Astrozytome werden auch als low-grade Astrozytome bezeichnet, AA und GBM unter dem Begriff high-grade Astrozytome zusammengefasst. Dabei wird als wesentliches histologisches Differenzierungsmerkmal das Vorkommen von Endothelhyperplasien und Kapillarproliferaten angeführt (Kolles et al., 1998).

## 1.3 Astrozytäre Tumoren

### 1.3.1 Pilozytisches Astrozytom (WHO-Grad I)

Pilozytische Astrozytome sind die häufigsten WHO-Grad-I-Tumoren und weisen als solche nur ein geringes proliferatives Potential und keine nennenswerten Zellatypien auf. Aufgrund ihrer guten Abgrenzbarkeit zum umgebenden Hirnparenchym sind sie, eine günstige Lokalisation vorausgesetzt, bei kompletter Resektion chirurgisch heilbar (Louis et al., 2007).

Sie stellen die häufigsten Gliome des Kindesalters dar und sind bevorzugt (aber nicht ausschließlich) im Kleinhirn lokalisiert. Molekulare Untersuchungen konnten in pilozytischen Astrozytomen kaum chromosomale und genetische Veränderungen nachweisen und auch ein Progress zu höher malignen Gliomen findet nur sehr selten statt (Riemenschneider und Reifenberger, 2009; Collins, 2004).

### 1.3.2 Diffuses Astrozytom (WHO-Grad II)

Diffuse Astrozytome (WHO-Grad II) können histologisch Atypien aufweisen, jedoch keine mitotische Aktivität oder höhergradige Atypien im Sinne einer Anaplasie (Louis et al., 2007). Sie sind langsam wachsende und gut differenzierte Tumoren, die jedoch eine Tendenz zur diffusen Infiltration benachbarter Hirngewebe zeigen. Dies erklärt ihre ausgesprochene Rezidivneigung, die bei langem Verlauf mit einer weiteren Entdifferenzierung in ein sekundäres AA (WHO-Grad III) oder später sogar in ein sekundäres GBM (WHO-Grad IV) einhergehen kann (Ohgaki und Kleihues, 2005; Louis et al., 2007). Dementsprechend beträgt die mediane Überlebenszeit der Patienten nur ungefähr 5 - 8 Jahre nach Diagnosestellung (Riemenschneider und Reifenberger, 2009).

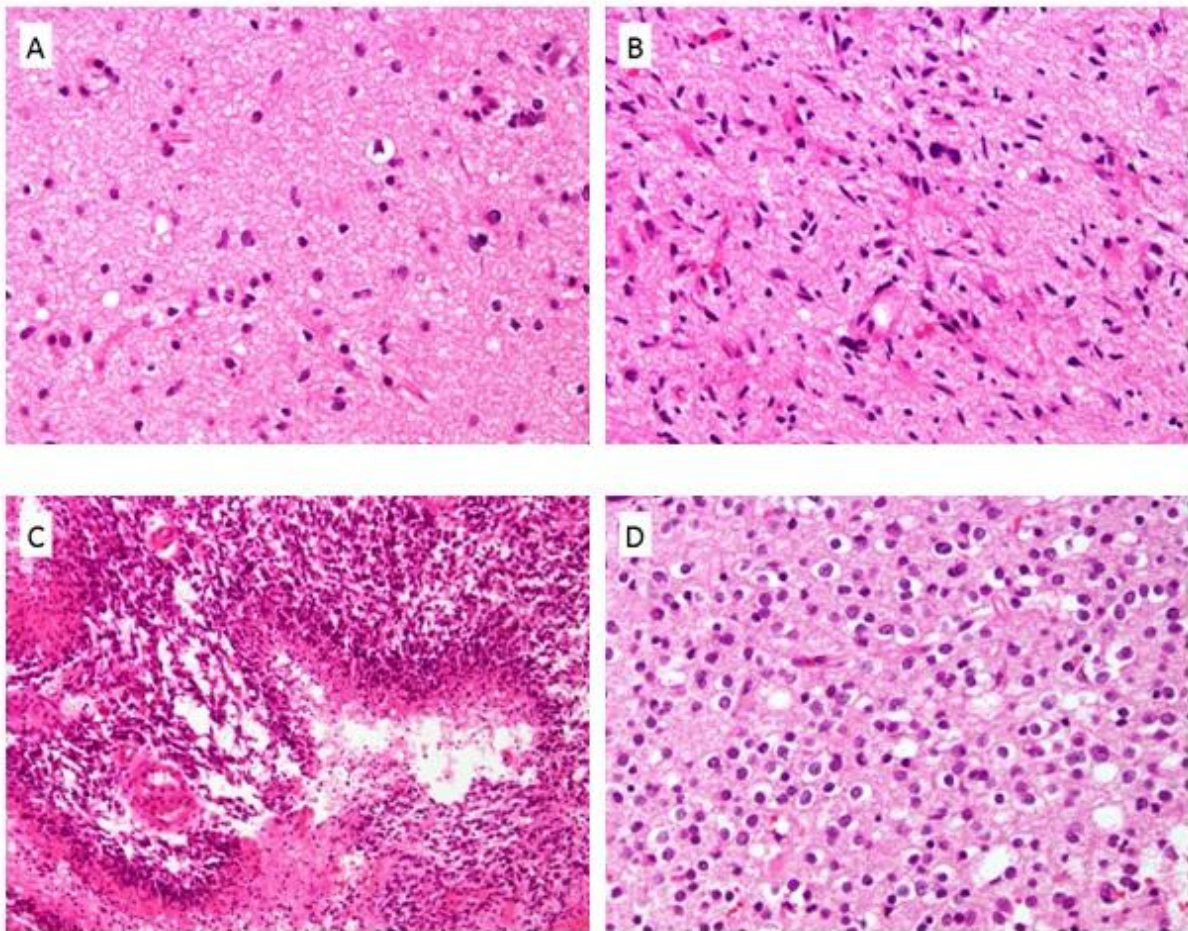
### 1.3.3 Anaplastisches Astrozytom (WHO-Grad III)

AA (WHO-Grad III) sind schnell wachsende Tumoren, die histologische Merkmale der Malignität aufweisen, wie z.B. eine erhöhte Zellularität sowie pleomorphe Zellformen, Kernatypien und Mitosen (Louis et al., 2007). Man findet sie typischerweise in der weißen oder kortikalen grauen Substanz der Großhirnhemisphären und in den Basalganglien (Rainov et al., 2006). Die medianen Überlebenszeiten liegen im Bereich von 2 - 3 Jahren nach Erstdiagnose (Riemenschneider und Reifenberger, 2009). Analog zu diffusen Astrozytomen können auch AA über die Zeit zu höher malignen Entitäten (entsprechend einem GBM) entdifferenzieren (Collins, 2004).

### 1.3.4 Glioblastoma multiforme (WHO-Grad IV)

Das GBM (WHO-Grad IV) ist mit ca. 70 % der häufigste astrozytäre Tumor und damit auch der häufigste primäre Hirntumor des Erwachsenenalters (Ohgaki und Kleihues, 2005). Dieser Tumor ist histopathologisch gekennzeichnet durch ein breites morphologisches Spektrum.

Neben einer starken mitotischen Aktivität findet man eine diffuse Infiltration des angrenzenden Hirngewebes, ausgeprägte Nekrosen mit hyperzellulärem Randwall und deutliche Gefäßproliferationen. Abbildung 1.1 zeigt die mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten histologischen Schnitte astrozytärer Gliome unterschiedlicher WHO-Malignitätsgrade aus dem Untersuchungsgut der Abteilung Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen. Eine hohe genetische Instabilität sowie eine Resistenz gegenüber Apoptose-Signalen tragen ebenso zum malignen Potential des Tumors bei (Yamanaka und Saya, 2009; Collins, 2004).



**Abbildung 1.1:** A = Histologie eines diffusen Astrozytoms, WHO-Grad II; B = Histologie eines AA, WHO-Grad III; C = Histologie eines GBM, WHO-Grad IV; D = Histologie der oligodendroglialen Komponente eines anaplastischen Oligoastrozytoms, WHO-Grad III

Die Prognose des GBM ist nach wie vor schlecht. Es wird über mediane Überlebensraten von 12-15 Monaten berichtet, auch nach aktuellen multimodalen Therapiestrategien (Stupp et al., 2005; Houillier et al., 2006). Eine Studie mit Einbezug aller Patienten kam sogar zu noch kürzeren medianen Überlebenszeiten von nur 4,7 Monaten (Ohgaki und Kleihues, 2007).

Einer der Gründe für das schlechte Überleben liegt unter anderem im diffus infiltrierenden Wachstumscharakter und der dadurch fehlenden kompletten Resezierbarkeit der GBM (Stupp et al., 2005). Schon die präoperative, kontrastmittelgestützte Bildgebung per Magnetresonanztomographie kann die Tumorgrenzen nur bedingt darstellen, da sie lediglich Areale mit einem hohen Anteil an Tumorzellen und einer starken Neoangiogenese sichtbar machen, jedoch nicht die weniger vaskularisierte Tumordinfiltrationszone zum gesunden Hirngewebe darstellen kann (Schiffer et al., 1997).

Bei der Pathogenese des GBM unterscheidet man heute den primären Typ, der de novo entsteht, vom sekundären Typ, bei dem sich das GBM aus einem low-grade Astrozytom entwickelt. Die Entitäten unterscheiden sich sowohl im klinischen Verlauf und der Altersverteilung als auch in genetischen Veränderungen deutlich. Der mit mehr als 90 % häufigere primäre Typ entsteht ohne Hinweis auf eine Vorläuferläsion (Ohgaki und Kleihues, 2005). Dabei bedeutet der Begriff de novo jedoch nicht, dass es sich um eine plötzliche maligne Transformation normaler Zellen handelt, da, wie bei anderen malignen Tumoren, eine Anhäufung mehrerer Mutationen für die Tumorgenese nötig ist. Zwei Drittel dieser Patienten haben aber eine sehr kurze klinische Anamnese von unter drei Monaten (Ohgaki und Kleihues, 2007), so dass eine kurzfristige Entstehung des GBM angenommen werden muss. Patienten mit primärem GBM sind oft eher von höherem Alter (Durchschnittsalter etwa 62 Jahre (Ohgaki und Kleihues, 2007) als die Patienten mit einem sekundärem GBM.

Die Entwicklung eines sekundären GBM erfolgt entweder aus einem diffusen Astrozytom (WHO-Grad II) über ein sekundäres AA (WHO-Grad III) oder direkt aus einem primären AA. Dementsprechend ist für die Diagnose eines sekundären Glioblastoms der vorherige biopsische oder klinische Beweis einer low-grade-Vorläuferläsion notwendig. Nur in ca. 5 % der Fälle lässt sich eine solche Anamnese feststellen, so dass die sekundären GBM den kleineren Anteil an der Gesamtzahl darstellen (Ohgaki et al., 2004; Dropcho und Soong, 1996). Dies könnte einerseits daran liegen, dass ein Teil der Patienten mit Vorläufertumoren ihren Erkrankungen erliegen, bevor ein Progress stattfindet, andererseits ist der fehlende Nachweis einer Vorläuferläsion bei besonders schnellem Voranschreiten eines Tumors denkbar.

Die Patienten mit einem sekundären GBM sind mit einem durchschnittlichen Alter von 45 Jahren deutlich jünger und die klinische Anamnese ist in der Regel länger als bei einem

primären GBM. So dauert der Progress von einem WHO-Grad-II-Tumor zu einem WHO-Grad-IV-Tumor im Schnitt 5,3 Jahre, während die Entartung von einem WHO-Grad-III-Tumor zu einem WHO-Grad-IV-Tumor nur 1,4 Jahre benötigt (Ohgaki und Kleihues, 2005). Es wurde gezeigt, dass die medianen Überlebenszeiten von Patienten mit sekundären GBM signifikant länger sind als die von solchen mit primären GBM. Dies scheint aber allein auf dem jüngeren Alter der Patienten zu beruhen, da nach Altersanpassung keine Unterschiede mehr festgestellt werden konnten (Ohgaki und Kleihues, 2007). Studien fanden heraus, dass Männer häufiger von primären GBM betroffen sind, während Frauen relativ häufiger an sekundären erkranken (Ohgaki et al., 2004). Auch scheinen Tumoren mit Mutationen des TP53-Tumorsuppressor-Gens, einer typischen Mutation in sekundären GBM, häufiger bei weiblichen Patienten vorzukommen (Louis et al., 1993). Histopathologisch sind praktisch keine Unterschiede zum primären Glioblastom auszumachen, jedoch findet sich ein deutlich differentes genetisches Profil (Ohgaki et al., 2004; Ohgaki und Kleihues, 2007).

#### 1.4 Komparative genomische Hybridisierung (CGH)

Die vergleichende genomische Hybridisierung (comparative genomic hybridisation = CGH) ist eine molekularzytogenetische Methode, die eine umfassende Analyse von unbalancierten Chromosomenaberrationen eines Genoms in einer einzigen Untersuchung ermöglicht. Ihr Einsatz wurde erstmals 1992 von Kallioniemi et al. beschrieben. Die Zugewinne und Verluste an genetischem Material können durch Vergleich von zu untersuchender (z.B. Tumor-) DNS mit gesunder Kontroll-DNS ermittelt werden. Nach Markierung der Test-DNS und der Referenz-DNS mit verschiedenfarbigen Fluochromen und Hybridisierung auf humanen Metaphasen eines gesunden Spenders können anhand der jeweiligen Signalverhältnisse numerische Aberrationen sichtbar gemacht werden. Dabei wird das Fluoreszenz- bzw. Farbmuster der Chromosomen zur Darstellung der veränderten Abschnitte genutzt. Dadurch können verschiedene Tumorentitäten genetisch charakterisiert werden (Houldsworth und Chaganti, 1994). Gewinne von genetischem Material können Onkogene beinhalten, die möglicherweise an der Tumorentstehung beteiligt sind. Verluste eines Chromosomenabschnittes können Hinweise auf die Lokalisation eines Tumorsuppressorgens geben.

In der Praxis hat sich die CGH als schnelles und umfassendes Screening-Verfahren bewährt, da sie im Gegensatz zu Methoden wie der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) oder der

PCR-Analytik, welche nur gezielt Teile des Genoms darstellen können, das gesamte Genom erfasst. Ein besonderer Vorteil der CGH ist die Möglichkeit, neben frischem bereits paraffinfixiertes Gewebe zu verwenden, wodurch auch retrospektive Studien durchführbar sind. Auch kann, wenn nötig, DNS amplifiziert werden, wodurch nur wenige Zellen für die Untersuchung benötigt werden (Speicher et al., 1993). Nachteile sind dagegen die mangelnde Darstellbarkeit von balancierten strukturellen chromosomalen Veränderungen wie Inversionen und Translokationen und die limitierte Auflösung. Sie liegt für Amplifikationen bei 2 bis 10 Mb, für Deletionen bei über 10 Mb (Forozan et al., 1997; James, 1999).

## 1.5 Astrozytäre Tumoren – chromosomale Aberrationen

Die molekularzytogenetische Untersuchung von Gliomen mittels CGH hat bereits in der Vergangenheit rekurrente Aberrationen nachweisen können, wobei GBM meist den Hauptgegenstand der Studien darstellten (Reifenberger und Collins, 2004; Arslantas et al., 2007).

Ferner konnte gezeigt werden, dass die durch CGH nachgewiesenen Veränderungen in signifikantem Maße mit dem biologischen Verhalten, genauer dem Expressionsmuster von Genen, korrelieren (Romeike et al., 2001; Bea et al., 2005).

### 1.5.1 Chromosomale Aberrationen diffuser Astrozytome (WHO-Grad II)

Als eine der am häufigsten anzutreffenden chromosomalen Veränderungen in diffusen Astrozytomen wurden die Trisomie 7 oder zumindest Zugewinne auf dem langen und/oder kurzen Arm von Chromosom 7 identifiziert (Arslantas et al., 2007; Roerig et al., 2005; Dahlback et al., 2011). Die zweithäufigste Veränderung stellen laut Literatur Zugewinne auf 8q dar (Nishizaki et al., 1998; Schrock et al., 1996; Arslantas et al., 2007). Weiterhin häufig nachzuweisen sind Hinzugewinne der Chromosomenabschnitte 5p, 9, 19p und 20q. Oft nachweisbare chromosomale Verluste liegen im Besonderen auf Chromosom 6 bzw. 6q, 10 (im Besonderen 10q), 12, 13q, 19q, 22q und den Geschlechtschromosomen (Riemenschneider und Reifenberger, 2009; Arslantas et al., 2007; Roerig et al., 2005).

### 1.5.2 Chromosomale Aberrationen anaplastischer Astrozytome (WHO-Grad III)

Zugewinne auf Chromosom 7 und Verluste des p53-Lokus sind in AA ähnlich häufig anzutreffen wie bei diffusen Astrozytomen des WHO-Malignitätsgrades II. Auch das weitere chromosomale Profil weist große Ähnlichkeit mit den weniger malignen Entitäten auf, zeigt aber insgesamt eine höhere Anzahl von Aberrationen (Riemenschneider und Reifenberger, 2009). Dementsprechend sind Zugewinne besonders auf den Chromosomen 1q, 12q, 17, 19 und 20 detektierbar. Verluste können auf den Chromosomen 1p, 6, 9p, 10, 11p, 19q und 22q nachgewiesen werden (Riemenschneider und Reifenberger, 2009; Arslantas et al., 2007; Roerig et al., 2005).

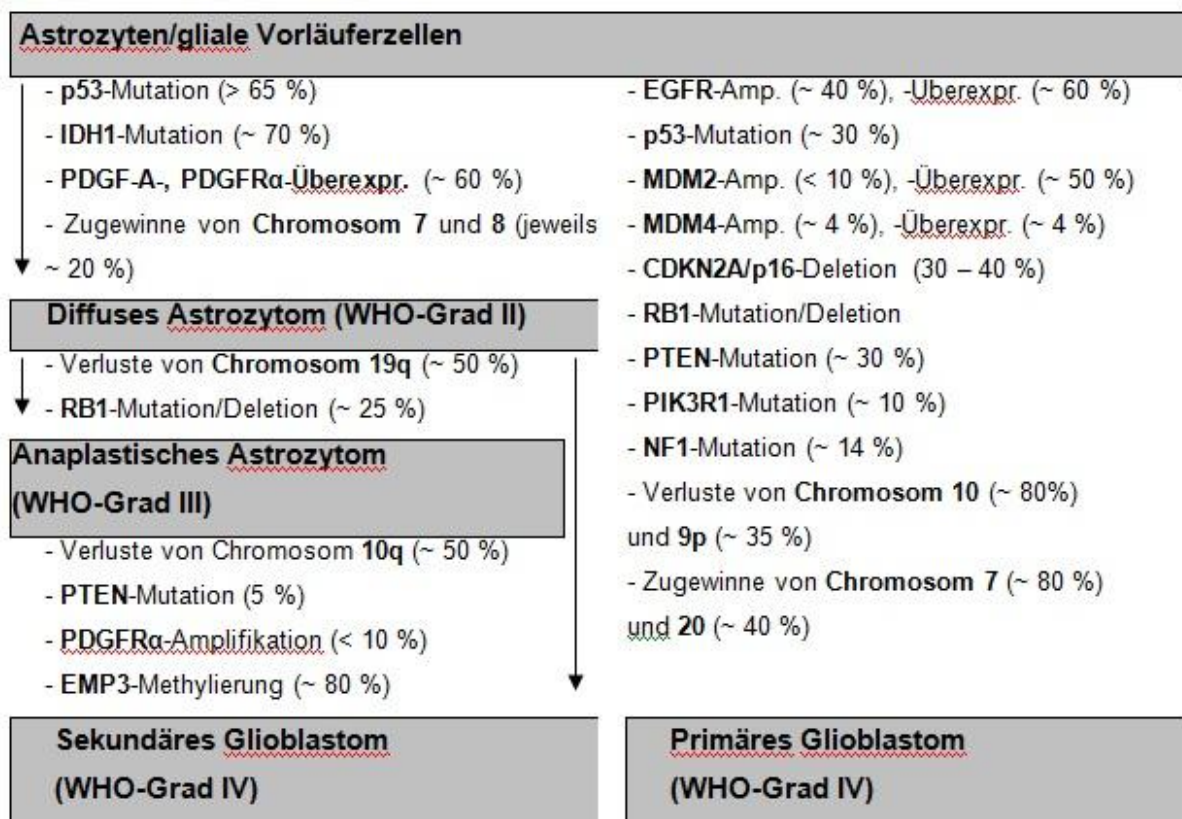
### 1.5.3 Chromosomale Aberrationen in Glioblastomen (WHO-Grad IV)

Die unterschiedliche Biologie primärer und sekundärer GBM spiegelt sich auch in ihren unterschiedlichen CGH-Profilen wieder. Ein Verlust genetischen Materials auf dem langen Arm von Chromosom 10 ist der häufigste Verlust sowohl in primären als auch sekundären GBM, wobei allerdings verschiedene, pathogenetisch bedeutsame Zielgene für die Entitäten angenommen werden. Verluste auf 10p sowie des gesamten Chromosom 10 sind vor allem eine Eigenschaft primärer GBM. Eine weitere in beiden Subtypen regelmäßig nachzuweisende Veränderung sind Verluste auf 9p. Hier liegt beispielsweise das CDKN2A-Gen, das für den CDK-Inhibitor 2A, ein Protein, das an der Regulierung des Zellzyklus beteiligt ist, kodiert (Ohgaki und Kleihues, 2007; Maher et al., 2006; Burton et al., 2002).

Zugewinne auf Chromosom 7, speziell des EGFR-Lokus (kodiert den epidermal growth factor receptor, einen Wachstumsfaktorrezeptor) auf 7p11-12 und des CDK6-Lokus (kodiert die Cyclin-dependente Kinase 6) auf 7q21, sind charakteristische und häufige Ereignisse in primären GBM. Auch Zugewinne auf dem langen Arm von Chromosom 19 sind typisch. Weiterhin sind Vermehrungen genetischen Materials auf den Chromosomen 1, 12q, 20q und 21 nachzuweisen. Typische Verluste, neben den bereits erwähnten auf den Chromosomen 10 bzw. 10p sowie 9p, konnten vor allem auf 1p, 6q, 13q, 14q, 19q und 22q detektiert werden (Ohgaki et al., 2004; Ohgaki und Kleihues, 2007; Maher et al., 2006; Burton et al., 2002; Inda et al., 2003; Arslantas et al., 2007).



Typische, in sekundären GBM nachzuweisende Aberrationen umfassen Zugewinne auf 8q, 10p, 12p und 17q, während Verluste laut Literatur häufig auf 3p, 4q, 5q, und 11p zu finden sind (Maher et al., 2006; Roerig et al., 2005). Auch Verluste auf 22q, 18q und 19q konnten in einer höheren Häufigkeit als in primären GBM nachgewiesen werden (Ohgaki und Kleihues, 2007; Maher et al., 2006; Roerig et al., 2005). Eine Darstellung der häufigsten molekulargenetischen Veränderungen bei Entstehung und malignem Progress diffuser Astrozytome findet sich in Abb. 1.2.



**Abbildung 1.2:** Schematische Darstellung der molekularen Pathogenese diffus infiltrierender astrozytärer Tumoren. Die linke Spalte zeigt den molekulargenetischen Progress von niedrig malignen zu hoch malignen astrozytären Tumoren. Rechts die typischen Veränderungen von primären GBM. Abbildung modifiziert nach Riemenschneider und Reifenberger, 2009.

## 1.6 Fragestellung

Anhand der morphologischen Kriterien von Gliomen können nur selten Aussagen über biologisches Verhalten und Ansprechen auf Therapie gemacht werden, da histologisch gleich erscheinende Tumoren mitunter auf molekularer Ebene völlig unterschiedlich sind. Gerade für GBM (WHO-Grad IV) haben Studien eine ausgeprägte genetische Heterogenität aufgedeckt. Zudem basiert die histopathologische Diagnose teilweise auf subjektiven Kriterien, die reproduzierbare Ergebnisse und die Verwendung von gewonnenen Daten erschweren.

In jüngerer Zeit wurde deswegen versucht, durch die Bestimmung des genetischen Profils von Tumoren die diagnostische Sicherheit zu verbessern (Maher et al., 2006; Tada et al., 2001; Phillips et al., 2006; Lee et al., 2008; Gravendeel et al., 2009). Auch die Etablierung verlässlicherer prognostischer und/oder prädiktiver Marker, neben bekannten klinischen Kriterien wie beispielsweise Alter des Patienten, Karnofsky Performance Status, Resektionsstatus und Lokalisation des Tumors war Gegenstand vieler Arbeiten (Devaux et al., 1993; Shapiro et al., 1989; Jeremic et al., 1994). Daneben verspricht die bessere Charakterisierung des Tumorgenoms die Entwicklung von neuen, effektiveren molekularbiologisch basierten Therapien. Und obwohl zur Zeit die Bestimmung genetischer Marker für Therapieentscheidungen noch nicht standardmäßig bei allen Tumoren empfohlen wird (Hasselblatt, 2008), ist doch ein deutlicher Trend zur molekularen Diagnostik, auch in der klinischen Routine, festzustellen (Yip et al., 2008).

Die Zielsetzung der vorliegenden Dissertation bestand in der Charakterisierung chromosomaler Aberrationen von Gliomen der WHO-Grade II bis IV durch CGH.

Folgenden Fragestellungen sollte nachgegangen werden:

Welche klinischen Parameter beeinflussen die Überlebenszeit und die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs?

Welche chromosomalen Aberrationen finden sich im zu untersuchenden Kollektiv innerhalb der verschiedenen Malignitätsgrade?

Welche chromosomalen Aberrationen haben einen negativen oder positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben und die zeitliche Latenz bis zum Auftreten von Rezidiven?

Welche chromosomalen Aberrationen finden sich im zeitlichen Verlauf und können hieraus verschiedene molekulargenetische Wege der Tumorgenese (Cluster) indentifiziert werden?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Herkunft des Tumormaterials

Die histopathologische Untersuchung und CGH wurde an in Paraffin eingebettetem Tumormaterial von 161 Astrozytomen aus dem Patientengut der Abteilung Neurochirurgie der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt. Ergänzt wurde das Tumorkollektiv durch 23 Astrozytome aus der Medizinischen Fakultät Uludag, Bursa (Türkei). Keiner der Tumoren war zum Zeitpunkt der Probengewinnung vorbehandelt. Es wurden ausschließlich Proben verwendet, die im Rahmen diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen unabhängig von der durchgeführten Studie gewonnen wurden. Zusätzliche Maßnahmen bzw. Eingriffe zur Durchführung der geplanten Studie wurden nicht vorgenommen. Die Einwilligung jeder Patientin bzw. jedes Patienten oder eines ermächtigten Familienmitglieds wurde vor Aufnahme in die Studie eingeholt (Ethikantragsnummer: 14/09/03). Die Aufzeichnung der klinischen Daten erfolgte vor der ersten Operation.

### 2.2 Material

#### Geräte

**Tabelle 2.1:** Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller	Firmensitz
Anregungsfilter DAPI	Genetix	New Milton, Großbritannien
Anregungsfilter FITC	Genetix	New Milton, Großbritannien
Anregungsfilter TRITC/TxRed	Genetix	New Milton, Großbritannien
BioPhotometer	Eppendorf	Hamburg
Brutschrank	Memmert	Schwabach
CCD-Kamera	Photometrics SENSYS	München
Elektrophoresekammer BlueMarine 100	Serva Electrophoresis	Heidelberg
Feinwaage BL 1500S	Sartorius	Göttingen
Hybridisierungskammer HYBrite	Vysis	Downers Grove, USA

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Magnetrührer MR 3001	Heidolph Instruments	Schwabach
Mikroskop Axioskop 40 FL	Carl Zeiss	Jena
Mikrotom HM 400	Microm	Volketswil, Schweiz
Objektiv Plan-Neofluar 10x/0,30	Carl Zeiss	Jena
Objektiv Plan-Neofluar 63x/1,25 Oil	Carl Zeiss	Jena
pH-Meter CG820	Schott Geräte	Mainz
Pipetten	Eppendorf	Hamburg
Polaroid-Kamera MP4+ ICS	Polaroid	Dreieich-Sprendlingen
Power Mac G3	Apple	Cupertino, USA
Power Mac G5	Apple	Cupertino, USA
Thermomixer comfort	Eppendorf	Hamburg
UV-Transluminator FLX 20.M	Vilber Lourmat	Eberhardzell
Vortex-Genie 2	Scientific Industries	Bohemia, USA
Zentrifuge Centrifuge 5417R	Eppendorf	Hamburg
Zentrifuge Concentrator 5301	Eppendorf	Hamburg

## Chemikalien und Biochemikalien

**Tabelle 2.2:** Verwendete Chemikalien und Biochemikalien

<b>Chemikalie bzw. Biochemikalie</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
6X Loading-Dye-Solution	Fermentas	St. Leon-Rot
Actinomycin-D-Mannitol	Sigma-Aldrich	Hamburg
Agarose-LE	Biozym	Hessisch Oldendorf
Albumin-Fraktion V	Merck	Darmstadt
Aqua ad iniectabilia	Fresenius Kabi	Bad Homburg
Aqua bidest.	UMG	Göttingen
Borsäure	Merck	Darmstadt
DAPI	Sigma-Aldrich	Hamburg
Dextransulfat	Merck	Darmstadt
DNS-Puffer	Fermentas	St. Leon-Rot
EDTA	Serva Electrophoresis	Heidelberg
Ethanol 100 %	Sigma-Aldrich	Hamburg

<b>Chemikalie bzw. Biochemikalie</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Ethanol 85 %	Sigma-Aldrich	Hamburg
Ethanol 70 %	Sigma-Aldrich	Hamburg
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich	Steinheim
Formamid	Sigma-Aldrich	Hamburg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Merck	Darmstadt
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Merck	Darmstadt
Natriumacetat	Merck	Darmstadt
Natriumchlorid	Merck	Darmstadt
Polysorbat 20	Sigma-Aldrich	Hamburg
Resin	Bio-Rad	München
Salzsäure 1 molar	Merck	Darmstadt
Salzsäure 37 %	Merck	Darmstadt
Salzsäure 5 molar	Merck	Darmstadt
tri-Natriumcitratdihydrat	Merck	Darmstadt
Tris	Merck	Darmstadt
Tris-HCl	Merck	Darmstadt
Vectashield Mounting Medium	Vector Laboratories	Burlingame, USA
Xylol	Carl Roth	Karlsruhe

### Verbrauchsmaterialien

**Tabelle 2.3:** Verwendete Verbrauchsmaterialien

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Deckgläser	Menzel-Gläser	Braunschweig
Fixogum	Marabu	Tamm
Küvetten	Eppendorf	Hamburg
Objektträger	Menzel-Gläser	Braunschweig
Pipettenspitzen	Sarstedt	Nümbrecht
Reagiergefäße 1,5 ml	Sarstedt	Nümbrecht

## Isolierungssysteme

**Tabelle 2.4:** Verwendete Isolierungssysteme

<b>Isolierungssystem</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
QIAamp DNA Mini Kit	Qiagen	Hilden

## Molekulare Standards

**Tabelle 2.5:** Verwendete Molekulare Standards

<b>Molekularer Standard</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Lambda-DNA/EcoRI Marker	Fermentas	St. Leon-Rot
pUC19 DNA/MspI (HpaII) Marker	Fermentas	St. Leon-Rot

## Nukleotide und DNS-Präparate

**Tabelle 2.6:** Verwendete Nukleotide und DNS-Präparate

<b>Nukleotid und DNS-Präparat</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Biotin-16-dUTP	Roche	Penzberg
COT Human DNA	Roche	Penzberg
Digoxigenin-11-dUTP	Roche	Penzberg
Sequencing Grade dNTP Set	Amersham Biosciences	Piscataway, USA

## Fluoreszenzfarbstoff-Konjugate

**Tabelle 2.7:** Verwendete Fluoreszenzfarbstoff-Konjugate

<b>Fluoreszenzfarbstoff-Konjugat</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Anti-Digoxigenin-Rhodamin	Roche	Penzberg
Fluorescein Avidin DCS	Vector Laboratories	Burlingame, USA

## Enzyme

**Tabelle 2.8:** Verwendete Enzyme

<b>Enzym</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
DNA-Polymerase I, E.coli	Fermentas	St. Leon-Rot
DNase I	Roche	Mannheim
Pepsin	Sigma-Aldrich	Hamburg
Proteinase K	Roche	Mannheim

## Metaphasenpräparate

**Tabelle 2.9:** Verwendete Metaphasenpräparate

<b>Metaphasenpräparat</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
CGH Metaphase Target Slides	Abbott Molecular	Wiesbaden

## CGH-Auswertungssoftware

**Tabelle 2.10:** Verwendete CGH-Auswertungssoftware

<b>CGH-Auswertungssoftware</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
Quips Karyotyping/CGH Software	Vysis	Downers Grove, USA

## 2.3 Methoden

Die Lösungen und Puffer wurden, wenn nicht anders angegeben, mit Aqua bidest. angesetzt.

### 2.3.1 Agarose-Gelelektrophorese

Prinzip: Die Agarose-Gelelektrophorese ist eine molekulargenetische Methode, mit der DNS-Fragmente nach ihrer Länge aufgetrennt werden können, um die Größe der jeweiligen Fragmente (durch Vergleich mit bekannten DNS-Längenstandards) zu bestimmen. Die Trennung der Nukleinsäuren geschieht dabei durch das Anlegen eines elektrischen Feldes, das negativ geladene Moleküle durch die Agarosematrix bewegt. Kürzere Fragmente bewegen sich schneller durch das Netz des Agarosegels und wandern so in der gleichen Zeit weiter als längere Fragmente. Unter UV-Licht sichtbar gemacht werden die DNS-Fragmente mittels einer Färbung mit Ethidiumbromid.

### Materialien für die Agarose-Gelelektrophorese

**Tabelle 2.11:** Für die Agarose-Gelelektrophorese verwendete Materialien

<b>TBE-Puffer</b>		<b>1000 ml</b>
Borsäure	89 mmol/l	5,5 g
EDTA	2 mmol/l	0,58 g
Tris	89 mmol/l	10,78 g
<b>Probenpuffer</b>		<b>6X Loading Dye Solution</b>
Bromphenolblau		0,03 %
EDTA		60 mmol/l
Glycerol		60 %
Tris-HCl		10 mmol/l
Xylencyanol FF		0,03 %



### Weitere verwendete Materialien

Agarose-LE	1,5 g in 100 ml
Ethidiumbromid	10 mg in 10 ml
Lambda-DNA/EcoRI (Längenstandard I)	1,5 µl
pUC19 DNA/MspI (HpaII) (Längenstandard II)	1,5 µl
TBE (Laufpuffer)	100 mg

Durchführung: 5 µl der zu untersuchenden DNS wurden zusammen mit 3 µl des Probenpuffers auf das Agarosegels pipettiert. Danach wurden 3 µl Probenpuffer, 5 µl steriles Wasser sowie 1,5 µl des Längenstandards zur DNS-Fragmentlängenbestimmung gemischt. Nach der DNS-Isolierung wurde der Längenstandard I, nach der Nick-Translation der Längenstandard II verwendet. Die Auftrennung der DNS-Fragmente erfolgte in der Elektrophoresekammer bei 80V über einen Zeitraum von 45 Minuten, wobei dem Laufpuffer sowie dem Agarosegel jeweils 15 µl Ethidiumbromid beigegeben wurden. Abschließend wurden die DNS-Sonden unter UV-Licht dargestellt und fotografiert.

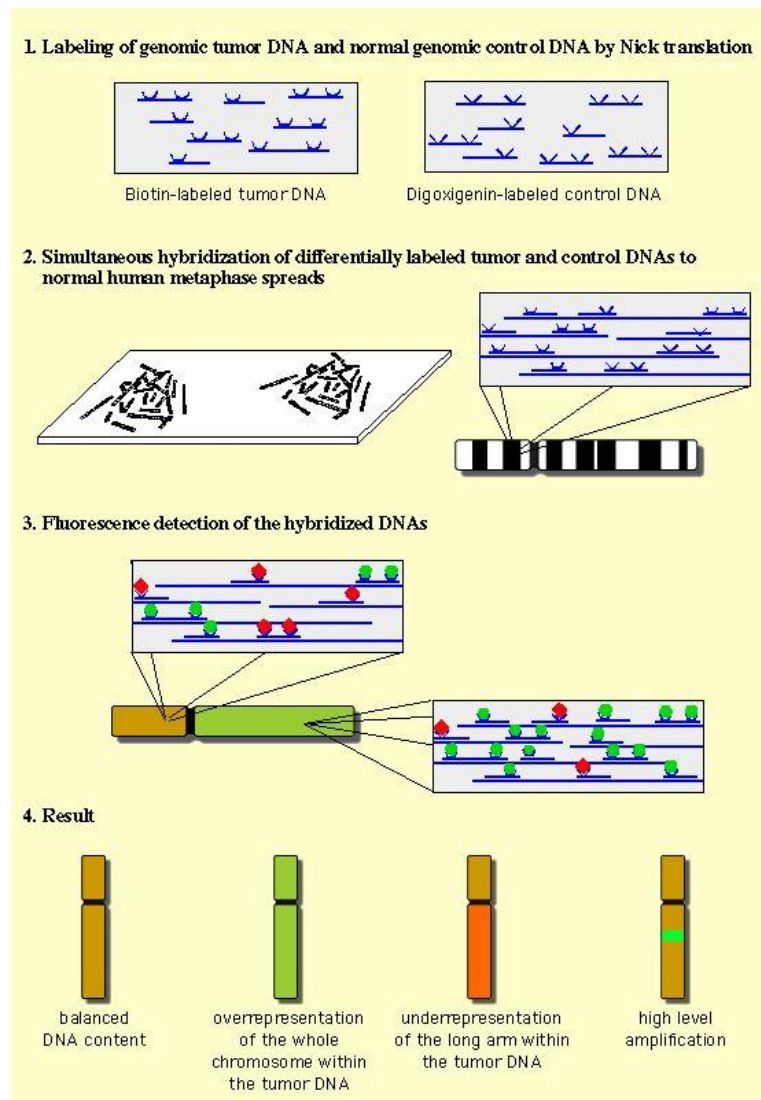
### 2.3.2 Photometrische DNS-Konzentrationsbestimmung

Prinzip: Die photometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren erlaubt eine konstante Qualität der Tumor- und Referenz-DNS-Proben. Die Bestimmung erfolgt dabei über das Lambert-Beersche-Gesetz durch Messung der Probenlösung bei einer Wellenlänge von 260 nm.

Durchführung: Fünf ml der DNS wurden mit 95 ml Aqua ad iniectabilia gemischt und bei 260 nm photometrisch gemessen. Das Verhältnis von DNS- zu Salzkonzentration wurde durch photometrische Messung bei 230 nm und 260 nm und Berechnung des Verhältnisses aus beiden Extinktionen bestimmt. Der Zielwert lag hierbei bei 2,0. Ein Extinktionskoeffizient von 1,0 bei 260 nm entspricht ca. 50 µg/ml an doppelsträngiger DNS. Dies gilt allerdings nur bei einem pH-Wert von ca. 7,0 und eine Küvettenschichtdicke von 1 cm, weswegen ein geeigneter Puffer bzw. ein geeignetes Reaktionsgefäß verwendet wurde.

### 2.3.3 Komparative Genomische Hybridisierung

Prinzip: Die CGH ist eine molekulargenetische Methodik, mit der die Darstellung genetischer Veränderungen eines Tumors auf chromosomaler Ebene möglich ist. Dabei können entweder Zugewinne oder Verluste genetischen Materials detektiert werden. Abb. 2.1 zeigt schematisch den Ablauf der CGH.



**Abbildung 2.1:** Schematische Darstellung der Komparativen Genomischen Hybridisierung (Baudis, 2000).

### 2.3.3.1 Tumor-DNS-Gewinnung aus Paraffinblöcken

Prinzip: Studien haben gezeigt, dass nicht die Lagerung von Gewebe in Paraffin, sondern die vorangehende Dauer der Fixierung in ungepuffertem Formalin die Qualität der Präparate beeinflussen kann (Ben-Ezra et al., 1991). Die Gewinnung von DNS aus paraffinfixiertem Gewebe erlaubt deswegen retrospektive Untersuchungen umfangreicher, bereits bestehender Tumorarchive paraffinierter Präparate mittels moderner Methoden.

Dazu wurden aus den paraffinfixierten Tumorproben dünne Gewebsschnitte gewonnen und anschließend mittels Zugabe von Proteinase K die Zellproteine verdaut, wodurch die DNS freigelegt wurde. Aus dem Digestionspuffer wurde diese freie DNS mit Hilfe des QiAmp DNA Mini Kits der Firma Qiagen extrahiert und aufgereinigt.

Durchführung: Zur Gewinnung der Tumor-DNS wurden mittels eines Mikrotoms jeweils 10 bis 20 10 µm dicke Schnitte des Paraffin-fixierten Tumorgewebes angefertigt und nachfolgend jeweils zweimalig in 1000 µl Xylol und 1000 µl 100 %-Ethanol für zehn Minuten inkubiert und zentrifugiert. Der Überstand wurde nach jedem Inkubationsschritt abpipettiert. Die anschließende Isolierung der Tumor-DNS aus den Zellen erfolgte durch Hinzugabe von 200 µl DNS-Isolierungspuffer und 40 µl Proteinase K und durch darauf folgende Inkubation des Gemischs über Nacht bei 55°C und 850 rpm im Thermomixer.

#### Zusammensetzung des DNS-Isolierungspuffers

**Tabelle 2.12:** Zusammensetzung des DNS-Isolierungspuffers

DNS-Isolierungspuffer		1000 ml
Tris-HCl	50 mmol/l	7,88 g
EDTA	1 mmol/l	0,37 g
Polysorbat 20	0,5 % (v/v)	5 ml

Nach der Inaktivierung der Proteinase durch Erhitzung auf 95°C über acht Minuten am darauf folgenden Tag wurden die Proben zehn Minuten bei 13.500 rpm zentrifugiert und anschließend der Überstand zur weiteren Verarbeitung abgenommen.

Der nächste Schritt bestand in der Aufreinigung der DNS-Proben. Diese erfolgte mittels des QiAmp DNA Mini Kit der Firma Qiagen. Dazu wurden 650 µl der DNS-Lösung mit 200 µl AL-Puffer auf dem Thermomixer bei 70°C und 1.400 rpm für zehn Minuten vermischt und

danach für fünf Minuten in 100 %igem Ethanol inkubiert. Das entstandene Gemisch wurde für zwei Minuten bei 10.000 rpm in Reaktionsgefäßen der Firma Qiagen zentrifugiert und anschließend der gewonnene Überstand verworfen. Die weitere Aufreinigung der DNS erfolgte durch Zentrifugation mit 10.000 rpm über zwei Minuten nach Zugabe von 500 ml AW1-Puffer und nachfolgender abermaliger Zentrifugation mit 14.000 rpm für drei Minuten nach Beimengung von 500 ml AW2-Puffer. Das jeweils erhaltene Filtrat wurde in beiden Fällen verworfen.

Die so gewonnene DNS wurde nun durch fünfminütige Inkubation mit 50 ml AE-Puffer und darauf folgender Zentrifugation mit 10.000 rpm für zwei Minuten aus dem Filter gelöst. Nach einmaliger Wiederholung des Schritts blieb eine Endmenge von 100 µl aufgereinigter DNS. Nachfolgend wurden die DNS-Konzentration sowie die DNS-Fragmentlänge mittels Gelelektrophorese photometrisch bestimmt

### 2.3.3.2 Referenz-DNS-Gewinnung

Aufgrund der hohen Zelldichte mit konsekutiv hohen Konzentration von DNS eignet sich Lebergewebe besonders gut als Referenzgewebe zur Gewinnung von Normal-DNS.

Ein ca. 5 mm<sup>3</sup> großes Stück Lebergewebe wurde zerkleinert und zusammen mit 360 ml ATL-Puffer und 40 ml Proteinkinase K in einem Reaktionsgefäß gemischt. Das erhaltene Gemisch wurde dann bei 55°C auf dem Thermomixer inkubiert. Die weitere Verarbeitung der erhaltenen Referenz-DNS erfolgte analog zu den Arbeitsschritten zur Behandlung der Tumor-DNS.

### 2.3.3.3 Nick Translation

Prinzip: Um die extrahierte Tumor- und Normal-DNS zu markieren, erfolgte die sogenannte Nick-Translation. Hierbei wurde die DNS mit der Desoxyribonuklease I behandelt, um Einzelstrangbrüche (sogenannte Nicks, englisch für „Kerben“) zu setzen. An das in der DNS entstandene, mit einer freien Hydroxylgruppe versehene 3'-Ende kann die DNS-Polymerase I markierte Nukleotide setzen und so neue DNS-Stränge synthetisieren.

Die Markierung der Tumor-DNS erfolgte hierbei mit Biotin-16-dUTP, die der unveränderten Referenz-DNS mit Digoxigenin-11-dUTP. Diese haben sich als besonders geeignete Markermoleküle erwiesen (Brigati et al., 1983; Komminoth, 1992). Die so gekennzeichneten

DNS-Sonden konnten dann mit spezifisch an diese bindenden, mit fluoreszierenden Farbstoffen markierten Molekülen gefärbt werden (Kallioniemi OP et al., 1994). Es handelte sich dabei um Anti-Digoxigenin-Rhodamin, welches an Digoxenin bindet, und Fluorescein-Avidin, das Biotin markiert.

Am Ende der Nick-Translation sollten die DNS-Fragmente eine Länge von 150-650 Basenpaaren haben, da sich gezeigt hat, dass in diesem Bereich einheitlichere Ergebnisse und eine bessere Intensität der Färbung vorliegen. Dies kann beispielsweise durch Modifikationen der Reaktionszeit und Konzentration der verwendeten Enzyme beeinflusst werden (Kallioniemi OP et al., 1994).

Zusammensetzung des 10 x Reaction Buffers (lag der DNS-Polymerase I bei)

**Tabelle 2.13:** Zusammensetzung des 10 x Reaction Buffers

<b>10 x Reaction Buffer</b>	
Tris-HCl	500 mmol/l
Magnesiumchlorid	100 mmol/l
Dithiothreitol	10 mmol/l

Durchführung: Je Probe wurden 3 µg Tumor- bzw. Referenz-DNS eingesetzt. Wenn nötig wurden die Proben, nach Berechnung durch die oben beschriebene photometrische Konzentrationsbestimmung, mit Aqua bidest. verdünnt.

Es wurden je Probe, neben der DNS, je 10 µl 10 x Reaction Buffer, 2 µl dATP, dGTP, dCTP, 1 µl dTTP und 1 µl Desoxyribonuklease sowie 2 µl DNS-Polymerase I zusammenpipettiert. Der Tumor-DNS wurden 1 µl Biotin-16-dUTP und der Referenz-DNS 1 µl Digoxigenin-11-dUTP hinzugegeben. Dies geschah auf Eis, um ein vorzeitiges Einsetzen der Enzymreaktion zu verhindern. Nach Auffüllung des Ansatzes mit sterilem Wasser auf 100 µl wurde gemischt und zentrifugiert. Die anschließende Inkubation erfolgte im 15°C warmen Wasserbad. Die Referenz-DNS wurde für 60 Minuten, die Tumor-DNS für 50 Minuten im Wasserbad belassen, da diese durch die Paraffineinbettung bereits zum Teil fragmentiert vorlag.

Nach der Inkubationszeit wurde die Reaktion durch Abkühlen auf -20°C angehalten und geprüft, ob bereits die optimale Fragmentlänge vorlag. Dazu wurden die DNS-Fragmente mittels oben beschriebener Agarosegel-Elektrophorese nach unterschiedlicher Fragmentlänge aufgetrennt.

Wurde durch die Elektrophorese bestätigt, dass die optimale Fragmentlänge von 150-600 Basenpaaren vorlag, wurde die Reaktion durch Zugabe von EDTA gestoppt. Lagen noch zu lange DNS-Fragmente vor, erfolgte ein weiterer Inkubationszyklus für fünf bis zehn Minuten bei 15°C und eine weitere anschließende elektrophoretische Fragmentlängenbestimmung. Beim Vorliegen von bereits zu kurzen Fragmenten wurde die Probe verworfen.

Vor Beginn der eigentlichen Hybridisierung erfolgte zunächst die Fällung und Resuspendierung in Hybridisierungslösung.

67 µl der Tumor-DNS sowie der gegengeschlechtlichen Normal-DNS wurden gemischt und nach Zugabe von 5 µl 0,5 M EDTA, 12 µl Natriumacetat und 580 µl 100 %igem Ethanol durch Abkühlung auf -80°C über 30 Minuten präzipitiert. Ferner wurden pro Hybridisierungsansatz 80 µl Cot-1 DNS eingesetzt, um ubiquitär vorkommende hochrepetitive DNS-Sequenzen (vor allem der Centromer-Regionen) abzudecken. Dieser als preannealing bezeichnete Schritt verhindert, dass die zu untersuchenden DNS-Sonden wahllos an eben diese hochrepetitiven Sequenzen unspezifisch binden.

Nach Zentrifugation über 45 Minuten bei 14.000 rpm und 4°C wurde der Überstand abpipettiert und das erhaltene DNS-Pellet zusammen mit 800 µl 70 %igem Ethanol über 45 Minuten bei 45°C und 1.400 rpm auf dem Thermomixer inkubiert. Anschließend erfolgte eine weitere fünfminütige Zentrifugation bei 14.000 rpm und einer Temperatur von 4°C. Der Überstand wurde wieder dekantiert und das dabei entstandene Pellet getrocknet.

Anschließend erfolgte die Resuspension und Denaturierung der aufgereinigten DNS in 6 µl deionisiertem Formamid über 60 Minuten bei 37°C und 1.400 rpm auf dem Thermomixer. Danach wurde dem Gemisch 7 µl Master-Mix hinzugegeben und bei 68°C für sechs Minuten auf dem Thermomixer inkubiert. Eine anschließende Vorhybridisierung erfolgte bei 37°C für 30 Minuten auf dem Thermomixer.

## Materialien für die Vorbereitung der Metaphasen

**Tabelle 2.14:** Für die Vorbereitung der Metaphasen verwendete Materialien

<b>Pepsinlösung</b>	<b>100 ml</b>
1 M HCl	1 ml
Pepsin	28,57 µl
<b>Denaturierungslösung</b> (Die Lösung wurde mit 37 %iger Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt)	<b>50 ml</b>
20 x SSC	5 ml
Aqua bidest.	5 ml
deionisiertes Formamid	35 ml
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5 ml

Die auf Objektträgern vorliegenden Metaphasenpräparate mussten vor dem Hybridisierungsvorgang mit den DNS-Fragmenten vorbehandelt und denaturiert werden. Als erstes wurden pro Objektträger zwei Hybridisierungsfelder mit Metaphasenchromosomen mit einem Diamantstift gekennzeichnet. Der anschließende Schritt bestand in der Inkubation der Objektträger für fünf Minuten in der auf 37°C angewärmten Pepsinlösung, mit einer darauffolgenden weiteren Inkubation in 2 x SSC, ebenfalls für fünf Minuten. Danach wurden die Objektträger zur Entwässerung für jeweils fünf Minuten in eine -20°C kalte, aufsteigende Alkoholreihe von 70 %igem, 85 %igem und 100 %igem Ethanol gegeben und nach Abschluss dieses Schritts für 30 Minuten bei Zimmertemperatur luftgetrocknet. Die sich anschließende Denaturierung der Metaphasen erfolgte durch eine Inkubation in Denaturierungslösung für zwei Minuten bei 69°C und einem pH von 7,0.

Daraufhin wurden die Objektträger wiederum in der oben beschriebenen Alkoholreihe für je fünf Minuten inkubiert. Abschließend wurden die Metaphasenpräparate für 15 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet und danach, ebenfalls für 15 Minuten, in der Hybridisierungskammer vorhybridisiert.

## 2.3.3.4 Hybridisierung

Prinzip: Die mit Digoxigenin markierten Normal-DNS-Fragmente sowie die mit Biotin markierten Tumor-DNS-Fragmente wurden zu gleichen Teilen gemischt und auf normale Metaphasenchromosomen hybridisiert. Da unbehandelte DNS in ihrer natürlichen Konfiguration als ein Doppelstrang vorliegt, musste sie vor der Hybridisierung in

Einzelstrangform gebracht werden. Dazu wurden die DNS-Sonden sowie die Metaphasenchromosomen denaturiert (durch Erhitzen und Behandlung mit formamidhaltiger Denaturierungslösung).

Durch eine komplementäre Bindung der DNS-Fragmente auf die homologen Bindungsstellen der Metaphasenpräparate kam es zur Bildung von Hybriden. Überwogen bestimmte Sequenzen in der Tumor-DNS (im Falle von Zugewinnen bzw. Amplifikationen), erfolgte die Bindung an die chromosomale DNS häufiger als die der Referenz-DNS. Im Falle von Verlusten gewisser DNS-Sequenzen im Tumorgenom erfolgte die Bindung seltener.

### Zusammensetzung der 20 x SSC Lösung zur Hybridisierung

**Tabelle 2.15:** Zusammensetzung der 20 x SSC Lösung zur Hybridisierung

<b>20 x SSC Lösung</b> (Die Lösung wurde mit 37 %iger Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt.)	<b>1000 ml</b>	
Natriumchlorid	3 mol/l	175,5 g
tri-Natriumcitratdihydrat	300 mmol/l	88,29 g

Durchführung: Bevor 13 ml der denaturierten DNS-Fragmente zur Hybridisierung auf die Metaphasenpräparate gegeben wurden, erfolgte eine Zentrifugation bei 3.500 rpm für 20 Sekunden. Das Hybridisierungsfeld mit der DNS wurde anschließend mit einem Deckglas versehen und die Ränder mit Fixogum versiegelt. Der endgültige Hybridisierungsvorgang erfolgte während einer Inkubation über 3 Tage bei einer Temperatur von 37°C im Brutschrank.

### 2.3.3.5 DNS-Nachweis (Detektion)

Prinzip: Durch wiederholtes Waschen nach der vorangegangenen Hybridisierung wurden die nicht an die Trägerchromosomen gebundenen DNS-Fragmente vom Objektträger entfernt. Ferner erfolgte nun die Markierung der mit Biotin gekennzeichneten Tumor-DNS-Sonden mit Fluorescein-Avidin, sowie der mit Digoxigenin gekennzeichneten Normalgewebs-DNS-Sonden mit Anti-Digoxigenin-Rhodamin. Die Bindung der mit fluoreszierenden Farbstoffen markierten Antikörper an die DNS-Sonden erlaubte die Unterscheidung zwischen Tumor- und Normal-DNS unter dem Fluoreszenzmikroskop. Als drittes Fluorochrom wurde



blaufluoreszierendes DAPI eingesetzt, welches die Chromosomen so anfärbte, dass sie das jeweils charakteristische G-Bandenmuster erhielten.

### Materialien für den DNS-Nachweis

**Tabelle 2.16:** Für den DNS-Nachweis verwendete Materialien

<b>Waschlösung I</b>		<b>1000 ml</b>
(Die Lösung wurde mit 5 molarer Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt.)		
Formamid	50 % (v/v)	500 ml
20 x SSC	10 % (v/v)	100 ml
<b>Waschlösung II</b>		<b>1000 ml</b>
(Die Lösung wurde mit 1 molarer Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt.)		
20 x SSC		200 ml
Polysorbat 20		1 ml
<b>Blockinglösung</b>		<b>100 ml</b>
(Die Lösung wurde mit 1 molarer Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt.)		
20 x SSC	5 % (v/v)	20 ml
Albumin-Fraktion V	3 % (w/v)	3 g
Polysorbat 20	0,1% (v/v)	0,1 ml
<b>Detektionslösung</b>		<b>1 ml</b>
(Die Lösung wurde mit 1 molarer Salzsäure auf pH 7,0 eingestellt.)		
20 x SSC	5 % (v/v)	0,2 ml
Albumin-Fraktion V	1 % (w/v)	3 g
Anti-Digoxigenin-Rhodamin		15 µl
Fluorescein Avidin DCS		5 µl
Polysorbat 20	0,1 % (v/v)	0,001 ml
<b>DAPI-Lösung</b>		<b>1 ml</b>
Actinomycin-D-Mannitol	12,5 µg/ml	50 µl
DAPI	2,5 µg/ml	1 µl
Vectorshield		1 ml

### Weitere verwendete Materialien

20 x SSC	1000 ml
Anti-Digoxigenin-Rhodamin	200 mg in 1 ml

Durchführung: Nach Abschluss des Hybridisierungsvorgangs erfolgte das Aufbringen der Fluochrome auf die Metaphasenpräparate. Zur Herstellung der Detektionslösung wurden dabei die in Tabelle 2.18 aufgeführten Reagenzien in möglichst lichtarmer Umgebung zusammenpipettiert und für zehn Minuten bei 37°C und 1.000 rpm auf dem Thermomixer inkubiert. Anschließend erfolgte eine weitere dreiminütige Zentrifugation des Gemischs bei 8.000 rpm.

Die Objektträger mit den Metaphasen wurden bei 42°C für zwei Minuten in 2 x SSC inkubiert und daraufhin das Fixogum abgelöst. In drei nun folgenden Waschdurchgängen wurden die unspezifischen Bindungen der DNS-Fragmente entfernt. Dazu wurden die Präparate für jeweils fünf Minuten bei einer Temperatur von 42°C in Waschlösung I inkubiert. Weitere drei Waschdurchgänge in 2 x SSC für je 5 Minuten bei 42°C schlossen sich an. Eine anschließende dreißigminütige Inkubation der Objektträger bei 37°C im Brutschrank nach Aufbringen von 300 µl Blockinglösung stoppte die Hybridisierungsreaktion.

Anschließend erfolgte ein weiterer Waschschrift der Metaphasenpräparate mit 2 ml Waschlösung II. Nun wurden 300 µl Detektionslösung auf die Objektträger pipettiert und für 60 Minuten inkubiert.

Ein weiteres dreimaliges Waschen für jeweils drei Minuten bei 45°C in einer Küvette mit Waschlösung II bei 42°C schloss sich an. Schließlich wurden 25 µl DAPI-Lösung auf die Objektträger aufgebracht und die Präparate mit einem Deckglas abgedeckt.

## 2.4 Bildaufnahme und rechnergestützte Auswertung

### 2.4.1 Bildaufnahme am Fluoreszenzmikroskop

Zunächst wurden im Präparat geeignete Metaphasen aufgesucht. Qualitätskriterien waren dabei möglichst vollständige Metaphasen mit nicht übereinanderliegenden, ausgebreiteten Chromosomen sowie keine hellen Artefakte oder Zellkerne im Aufnahmegebiet. Ferner ein minimaler unspezifisch gefärbter Hintergrund, helle und möglichst homogene

Hybridisierungssignale über die gesamten Chromosomen sowie eine adäquate DAPI-Färbung. Entsprachen die Präparate nicht den Qualitätskriterien, wurde die CGH bis zu zweimal wiederholt, wenn genügend Ausgangsmaterial zur Verfügung stand. Erbrachte die zweite Wiederholung ebenfalls kein qualitativ ausreichendes Ergebnis, wurde der Fall von der Auswertung ausgeschlossen.

Die Bildaufnahme erfolgte mit einem Zeiss Axioskop Fluoreszenzmikroskop, welches mit drei separaten Bandpassfiltern für jeweils einen der fluoreszierenden Farbstoffe (DAPI (zur späteren Identifizierung der Chromosomen), FITC-Avidin (Tumor-DNS) oder Anti-Digoxigenin-Rhodamin (Normal-DNS)) ausgestattet ist. Von jeder geeigneten Metaphase wurden mittels einer an das Fluoreszenzmikroskop angeschlossenen CCD-Kamera bei 880-facher Vergrößerung je drei monochrome Bilder angefertigt, ein Bild pro Fluoreszenzfilter. Die CCD-Kamera kodierte das Fluoreszenzsignal als Graustufenbild mit einer Größe von 1016 x 896 Pixel. Im Computer wurde das als JPEG-File gespeichert, wobei die Fluoreszenzintensität in 8 bit-Farbtiefe (256 Graustufen) quantifiziert wurde. Die Intensität der Fluoreszenzfarbstoffe spiegelte das Verhältnis von Tumor-DNS zu Referenz-DNS wider. Die Beleuchtung der Präparate während der Bildaufnahme erfolgte mittels einer Quecksilberdampfampe. Pro Präparat wurden mindestens 20 der besten Metaphasen aufgenommen.

#### 2.4.2 Bildauswertung: Erstellen von CGH-Karyogrammen

Die drei den jeweiligen Fluoreszenzsignalen entsprechenden monochromen Bilder wurden mit der Quips Karyotyping/CGH Software übereinandergelegt, wodurch ein zusammengesetztes Bild entstand. Danach wurde die Qualität der Bilder überprüft und eventuell qualitativ unzureichende Metaphasen von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Überwog innerhalb einer Metaphase das Signal eines Fluochroms (FITC-Avidin oder Anti-Digoxigenin-Rhodamin), bedeutete dies ein Überwiegen des entsprechenden Fluochroms an dieser Stelle. Gewinne genetischen Materials im Tumor wurden grün, DNS-Verluste (dargestellt durch Überwiegen des Fluoreszenzsignales durch Normal-DNS) rot und eine gleich verteilte DNS blau dargestellt.

Anschließend wurden mit Hilfe der DAPI-Darstellung die Chromosomen vom Hintergrund abgegrenzt. Für die weitere Analyse mussten die Chromosomen zunächst einmal geometrisch

transformiert werden, um homologe Chromosomen miteinander vergleichen zu können. Dazu wurden sich eventuell berührende Chromosomen voneinander getrennt und schließlich in ihrer Längsrichtung begradigt und angeordnet. Ferner erfolgte eine Normierung der Chromosomen auf eine Einheitslänge und -breite, die dann mit den weiteren homologen Chromosomen des Falles zu einem „Einheitschromosom“ zusammengefasst wurden. Die Karyotypisierung erfolgte mit Hilfe spezifischer Eigenschaften der Chromosomen wie Größe, Verhältnis von langem zu kurzem Arm und dem spezifischen Banding-Muster im DAPI-Bild. Abschließend wurden aus den Chromosomen einzelne Karyogramme erstellt.

## 2.5 Erstellen eines Profildiagrammes und Ratioprofiles

Für jeden Fall wurde nun mit Hilfe der Quips Karyotyping/CGH Software aus den einzelnen Karyogrammen ein CGH-Summenkaryogramm angefertigt, wodurch Artefakte minimiert und fallspezifische Veränderungen stärker hervorgehoben wurden. Ferner stellt ein solches Diagramm chromosomale Zugewinne und Verluste als Graphen dar. Die Darstellung entspricht dabei der des RATIO-Profiles der Karyogramme der einzelnen Metaphasen: Zugewinne und Amplifikationen genetischen Materials im Tumor werden grün dargestellt, DNS-Verluste rot und ein ausgewogenes Verhältnis erscheint blau. Über- oder unterschritt besagter Graph in der Darstellung einen bestimmten Schwellenwert, wurde dies als Gewinn bzw. Verlust genetischen Materials gewertet. Die Grenzwerte lagen hierbei bei 0,80 bis 0,85 für DNS-Verluste, respektive bei 1,15 bis 1,20 für DNS-Gewinne. Als Amplifikation wurde eine Überschreitung von 1,5 gewertet.

## 2.6 Nomenklatur

Die erstellten Diagramme entsprachen der Nomenklatur humaner Chromosomen für in-situ-Hybridisierung des International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) (Shaffer et al., 2009). Für die Dokumentation wurde die reverse-in-situ-hybridization-Schreibweise (rev ish) verwendet. Dabei folgt auf ein rev ish am Anfang jeder Notation ein enh für DNS-Zugewinne und ein dim für DNS-Verluste. Die beschriebenen Summenkaryogramme wurden in einer Expertenkonferenz der Abteilung Gastroenteropathologie in die rev ish-Schreibweise überführt.

## 2.7 Von der Auswertung ausgeschlossene Bereiche

Da die chromosomalen Regionen 1p32pter, 13p, 14p, 15p, 21p, 22p, Telomere und heterochromatische Regionen auf 1q, 9q, 16q und Yq in der CGH falsche Ergebnisse aufweisen können, wurden sie von den Analysen ausgeschlossen.

## 2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte unter Hilfestellung und teilweise durch die Abteilung Medizinische Statistik der Georg-August-Universität Göttingen für jede Gruppe der WHO-Malignitätsgrade. Alle chromosomalen Veränderungen wurden dabei auf dem Niveau von Chromosomenarmen ausgewertet.

Für jeden der Chromosomenarme (exklusive der in 2.7 bereits erwähnten) wurde überprüft, ob Zugewinne, Amplifikationen oder Verluste genetischen Materials vorlagen.

Mediane Zeitintervalle bis zum Eintreten eines Effektes (Tod und Auftreten eines Rezidivs) wurden mit der Kaplan-Meier-Methode berechnet. Die Signifikanz eines Unterschiedes der verschiedenen Zeitintervalle wurde mittels Logrank-Test ermittelt.

Die Darstellung der Korrelation von Überlebenszeit und Zeit bis zum Rezidiv mit dem Alter erfolgte per Streudiagramm. Zudem wurde die Korrelation durch den Pearson'schen Korrelationskoeffizienten bestimmt.

Die Korrelation von Überlebenszeit und Zeit bis zum Rezidiv mit der Art der gewählten Therapie erfolgte per einfaktorieller Varianzanalyse (one-way analysis of variance, ANOVA). Alle Analysen wurden mit einem globalen Signifikanzlevel von 5 % durchgeführt. Als Berechnungsprogramm diente die kommerzielle Statistiksoftware STATISTICA (Version 9.0, StatSoft, Tulsa, USA), mit der auch die zugehörigen Grafiken erstellt wurden.

Ferner wurden aus den erhaltenen Daten für Tumoren jeder Malignitätsgruppe onkogenetische Baummodelle erstellt, um verschiedene genetische Wege der Tumorgenese darzustellen (von Heydebreck et al., 2004).

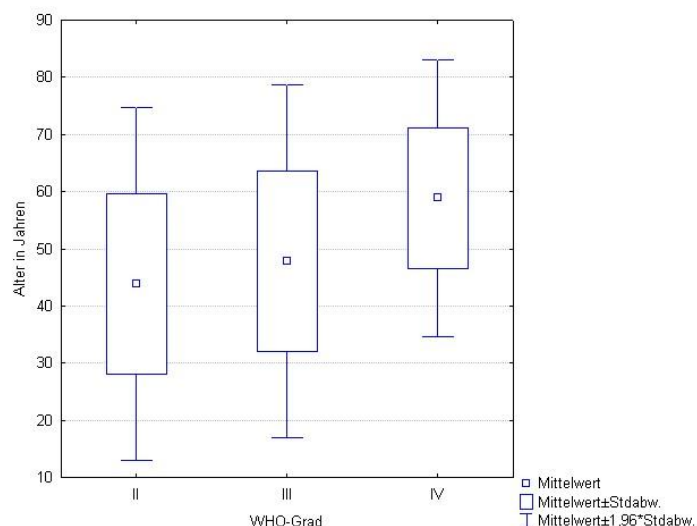
## 3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 184 primäre Gliome in die Untersuchungen eingeschlossen. Hierbei handelte es sich um 28 diffuse Astrozytome (WHO-Grad II), 6 Oligoastrozytome (WHO-Grad II), 50 AA (WHO-Grad III), 4 anaplastische Oligoastrozytome (WHO-Grad III) und 96 GBM (WHO-Grad IV) (Anhang Tab. A.1-A.3, Seite 108-110).

### 3.1 Klinisch-pathologische Parameter

#### 3.1.1 Alter

Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug 52,2 Jahre (minimales Alter 7 Jahre, maximales Alter 80 Jahre, Median 54 Jahre). Die mittleren Alter der histologischen Subtypen betragen 43,8 Jahre (minimales Alter 7 Jahre, maximales Alter 74 Jahre, Median 43 Jahre) für WHO-Grad-II-Tumoren, 47,8 Jahre (minimales Alter 22 Jahre, maximales Alter 78 Jahre, Median 48 Jahre) für Tumoren des WHO-Grades III sowie 58,9 Jahre (minimales Alter 15 Jahre, maximales Alter 80 Jahre, Median 60 Jahre) für GBM. Es zeigte sich also, dass Tumoren höheren Grades bei älteren Patienten häufiger anzutreffen waren (Abb. 3.1).



**Abbildung 3.1:** Altersverteilung der Patienten nach den WHO-Malignitätsgraden

### 3.1.2 Geschlecht

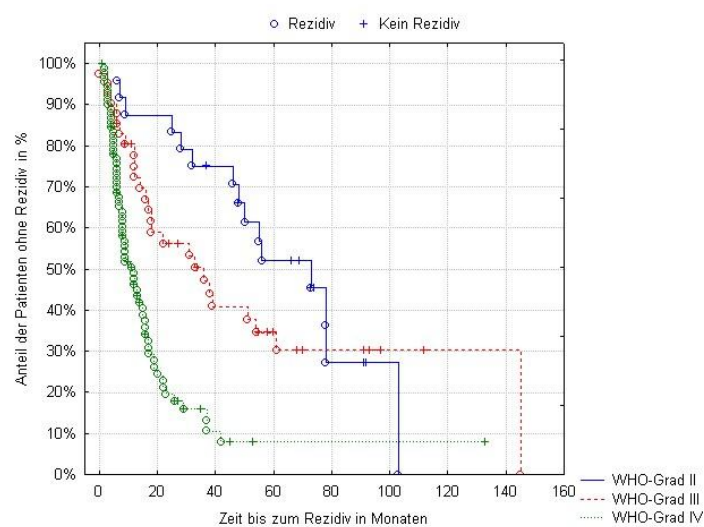
Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Patienten betrug 58,2 % zu 41,8 %, wobei das Verhältnis in WHO-Grad-II-Tumoren 68,0 % zu 32,0 %, bei WHO-Grad-III-Tumoren 51,9 % zu 48,1 % und bei WHO-Grad-IV-Tumoren 58,3 % zu 41,6 % lag.

## 3.2 Einfluss klinisch-pathologischer Parameter auf die rezidivfreie Zeit

### 3.2.1 Einfluss des WHO-Grades auf die rezidivfreie Zeit

Die mittlere rezidivfreie Zeit der Patienten mit WHO-Grad-II-Tumoren (n = 24) betrug 54,7 Monate (minimal 6 Monate bis maximal 103 Monate, Median 55,5 Monate). Für Patienten mit WHO-Grad-III-Tumoren (n = 41) betrug die mittlere rezidivfreie Zeit 36,1 Monate (minimal 0 Monate bis maximal 145 Monate, Median 24 Monate). Patienten mit GBM (n = 93) zeigten eine mittlere rezidivfreie Zeit von 13,4 Monaten (minimal 1 Monat bis maximal 133 Monate, Median 8 Monate) (Abb. 3.2).

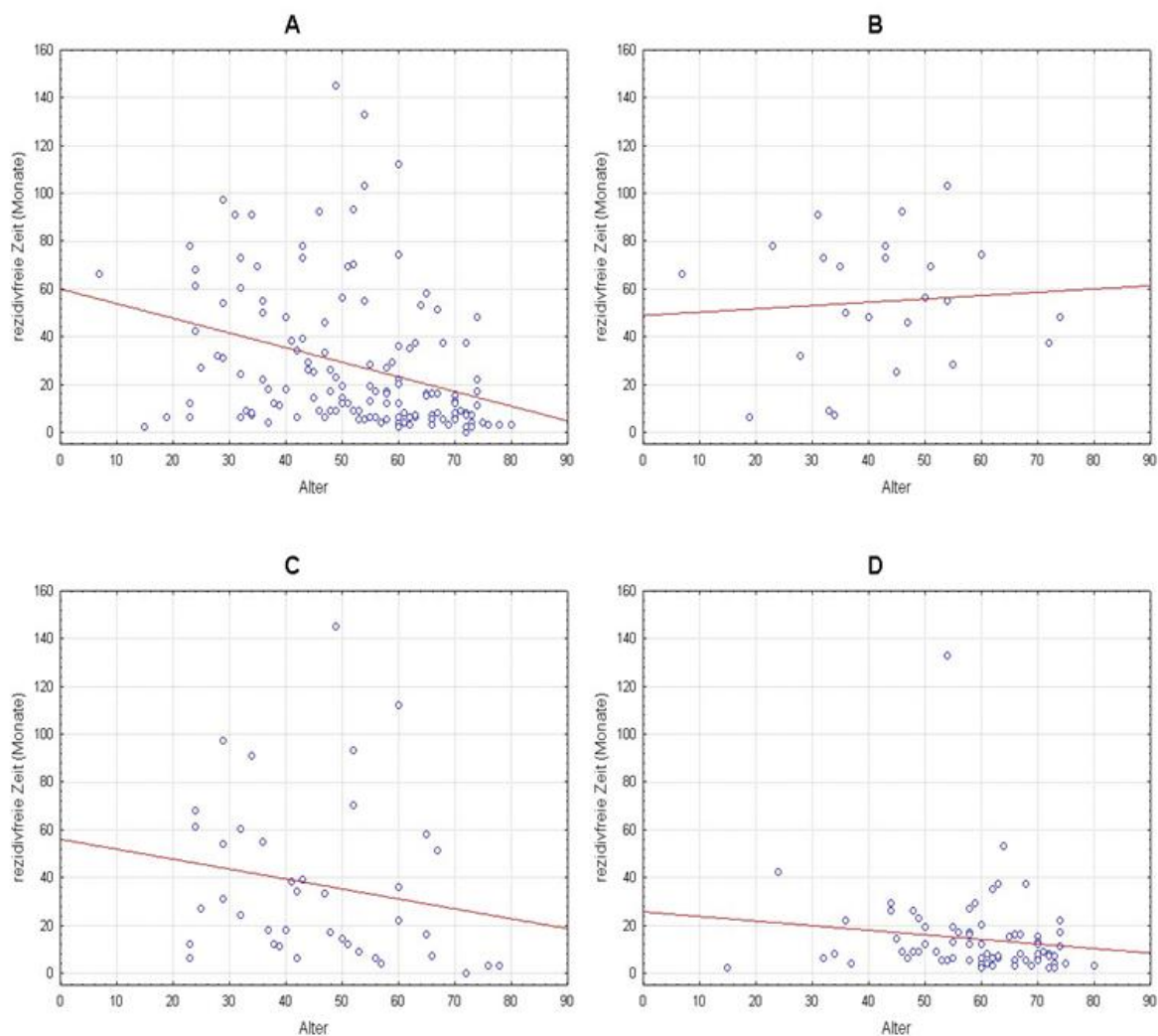
Mittels Varianzanalyse (ANOVA) wurde der Einfluss des WHO-Grades der Tumoren auf die rezidivfreie Zeit untersucht. Mit einem p-Wert von  $< 0,0001$  war der statistische Zusammenhang hochsignifikant.



**Abbildung 3.2:** Kaplan-Meier-Kurven der rezidivfreien Zeit in Monaten von Gliomen unterschiedlicher WHO-Malignitätsgrade

### 3.2.2 Einfluss des Alters auf die rezidivfreie Zeit

Bei 158 Patienten standen sowohl Daten zum Alter bei Erstdiagnose als auch zur Zeit bis zum Rezidiv zur Verfügung (24 Grad II, 41 Grad III, 93 Grad IV). Bei keinem der WHO-Grade zeigte sich ein statistisch signifikanter Einfluss des Alters auf die rezidivfreie Zeit ( $p = 0,7100$ ;  $0,2442$ ;  $0,2437$  für die WHO-Grade II; III; IV). Für alle Tumoren gemeinsam konnte ein signifikant kürzeres Zeitintervall bis zum Rezidiv bei höherem Alter nachgewiesen werden ( $p = 0,0001$ ) (Abb. 3.3).



**Abbildung 3.3:** Zusammenhang zwischen rezidivfreier Zeit in Monaten und Alter der Patienten in primären Astrozytomen. A: WHO-Grade II-IV ( $p = 0,0001$ ); B: diffuse Astrozytome (WHO-Grad II;  $p = 0,7100$ ); C: AA (WHO-Grad III;  $p = 0,2443$ ); D: GBM (WHO-Grad IV;  $p = 0,2437$ )

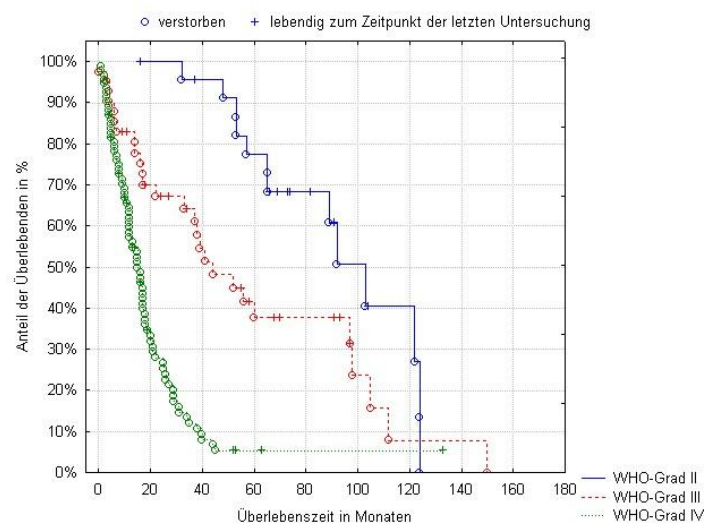


### 3.3 Einfluss klinisch-pathologischer Parameter auf die Gesamtüberlebenszeit

#### 3.3.1 Einfluss des WHO-Grades auf die Gesamtüberlebenszeit

Das mittlere Gesamtüberleben der Patienten mit WHO-Grad-II-Tumoren ( $n = 24$ ) betrug 74,9 Monate (minimal 16 Monate bis maximal 124 Monate, Median 71 Monate). Für Patienten mit WHO-Grad-III-Tumoren ( $n = 41$ ) betrug das mittlere Gesamtüberleben 43,2 Monate (minimal 0 Monate bis maximal 150 Monate, Median 34 Monate). Patienten mit WHO-Grad-IV-Tumoren ( $n = 92$ ) zeigten ein mittleres Gesamtüberleben von 17,5 Monaten (minimal 1 Monat bis maximal 133 Monate, Median 13 Monate) (Abb. 3.4).

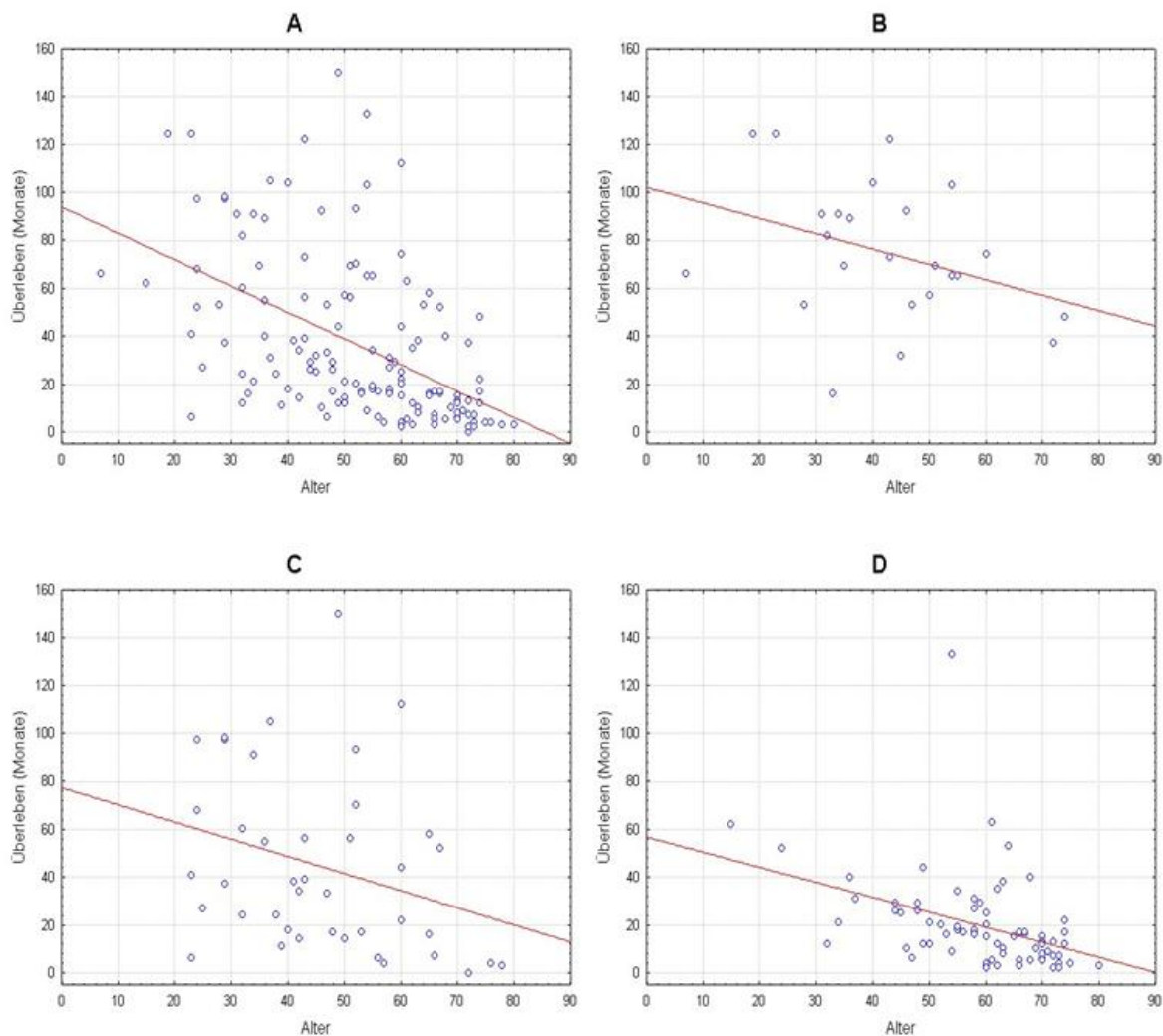
Mittels Varianzanalyse (ANOVA) wurde der Einfluss des WHO-Grades der Tumoren auf das Gesamtüberleben untersucht. Mit einem p-Wert von  $< 0,0001$  war der statistische Zusammenhang hochsignifikant.



**Abbildung 3.4:** Kaplan-Meier-Kurven der Gesamtüberlebenszeit in Monaten von Gliomen unterschiedlicher WHO-Malignitätsgrade

### 3.3.2 Einfluss des Alters auf die Gesamtüberlebenszeit

Daten sowohl zum Alter bei Erstdiagnose als auch zur Gesamtüberlebenszeit nach Diagnosestellung standen bei 157 Patienten zur Verfügung (24 Grad II, 41 Grad III, 92 Grad IV). Das mittlere Gesamtüberleben aller Patienten in Monaten nach Diagnosestellung betrug 33,3 Monate (minimal 0 Monate bis maximal 150 Monate, Median 18 Monate). Die univariate Analyse ergab einen signifikanten Zusammenhang von höherem Alter bei Erstdiagnose und verkürzter Gesamtüberlebenszeit ( $p = 0,0003$ ) bei GBM. Keine statistische Signifikanz erreichte dieser Zusammenhang für Tumoren der WHO-Grade II ( $p = 0,091$ ) und III ( $p = 0,0561$ ) (Abb. 3.5).



**Abbildung 3.5:** Zusammenhang zwischen Gesamtüberleben in Monaten und Alter der Patienten in primären Astrozytomen. A: WHO-Grade II-IV ( $p = < 0,0001$ ); B: diffuse Astrozytome (WHO-Grad II;  $p = 0,0915$ ); C: AA (WHO-Grad III;  $p = 0,0561$ ); D: GBM (WHO-Grad IV;  $p = 0,0003$ )

### 3.4 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome

Paraffin-asserviertes Tumormaterial von insgesamt 184 primären (unbehandelten) Gliomen wurde mittels CGH auf Chromosomenaberrationen hin untersucht.

Chromosomale Aberrationen ließen sich in insgesamt 171 (92,9 %) der untersuchten Tumoren nachweisen, 13 (7,1 %) der Tumoren zeigten bei technisch einwandfreiem Ergebnis weder chromosomale Zugewinne noch Verluste. Auch diese Fälle wurden dementsprechend in die statistische Auswertung mit einbezogen.

#### 3.4.1 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II

Es wurden 34 astrozytäre Tumoren des WHO-Grades II mittels CGH untersucht (Anhang Tab. A.4, Seite 112). Diese verteilten sich auf 28 diffuse Astrozytome und 6 isomorphe Oligoastrozytome (Tab. 3.1). 28 der untersuchten Tumoren (82,4 %) wiesen chromosomale Imbalancen auf. In 6 Fällen (17,6 %) ließen sich keine Veränderungen nachweisen.

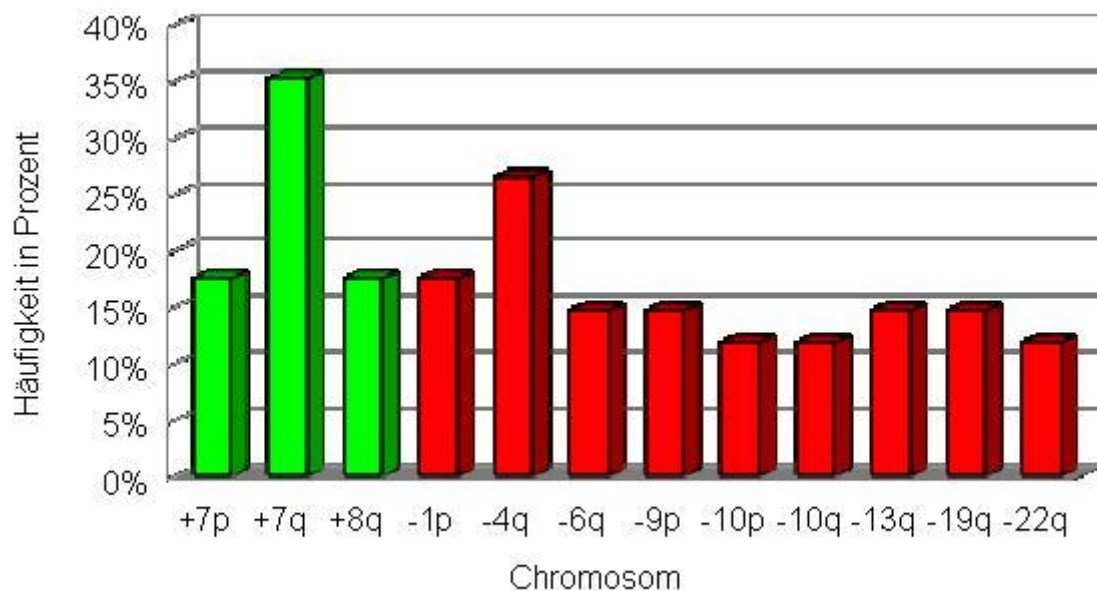
**Tabelle 3.1:** Verteilung der häufigsten festgestellten chromosomalen Aberrationen (in >10 % der Fälle) unter 34 primären WHO-Grad-II-Gliomen auf Astrozytome und Oligoastrozytome

Chromosom	Astrozytom WHO-Grad II (n = 28)	Oligoastrozytom WHO-Grad II (n = 6)
7p +	5 (17,9 %)	1 (16,6 %)
7q +	7 (25,0 %)	5 (83,3 %)
8q +	6 (21,4 %)	0 (0 %)
1p -	5 (17,9 %)	1 (16,6 %)
4q -	6 (21,4 %)	2 (33,3 %)
6q -	2 (7,1 %)	3 (50,0 %)
9p -	3 (10,7 %)	2 (33,3 %)
10p -	4 (14,3 %)	0 (0 %)
10q -	4 (14,3 %)	0 (0 %)
13q -	5 (17,9 %)	0 (0 %)
19q -	4 (14,3 %)	1 (16,6 %)
22q -	4 (14,3 %)	0 (0 %)

Insgesamt zeigten 20 der untersuchten Tumoren Zugewinne genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 1,15 Zugewinnen pro Tumor. Die häufigsten chromosomalen Zugewinne fanden sich auf Chromosom 7q (35,3 %) beziehungsweise 7p (17,6 %) sowie Chromosom 8q (17,6 %) (Abb. 3.6).

Eine Amplifikation konnte nur in einem der Fälle auf 4q12 nachgewiesen werden.

Insgesamt zeigten 24 der untersuchten Tumoren Verluste genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 1,88 Verlusten pro Tumor. Chromosomale Verluste fanden sich besonders oft auf Chromosom 4q (26,5 %) und Chromosom 1p (17,6 %). Weiterhin auf den Chromosomen 6q, 9p, 13q und 19q (jeweils 14,7 %) (Abb. 3.6).



**Abbildung 3.6:** Die häufigsten festgestellten chromosomalen Aberrationen (in >10 % der Fälle) unter 34 primären WHO-Grad-II-Gliomen

### 3.4.2 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad III

Es wurden 54 astrozytäre Tumoren des WHO-Grades III mittels CGH untersucht (Anhang Tab. A.5, Seite 113). Diese setzten sich aus 50 AA und 4 anaplastischen Oligoastrozytomen zusammen (Tab. 3. 2). 50 der untersuchten Tumoren (92,6 %) wiesen chromosomale Imbalancen auf. In 4 Fällen (7,4 %) ließen sich keine Veränderungen nachweisen.

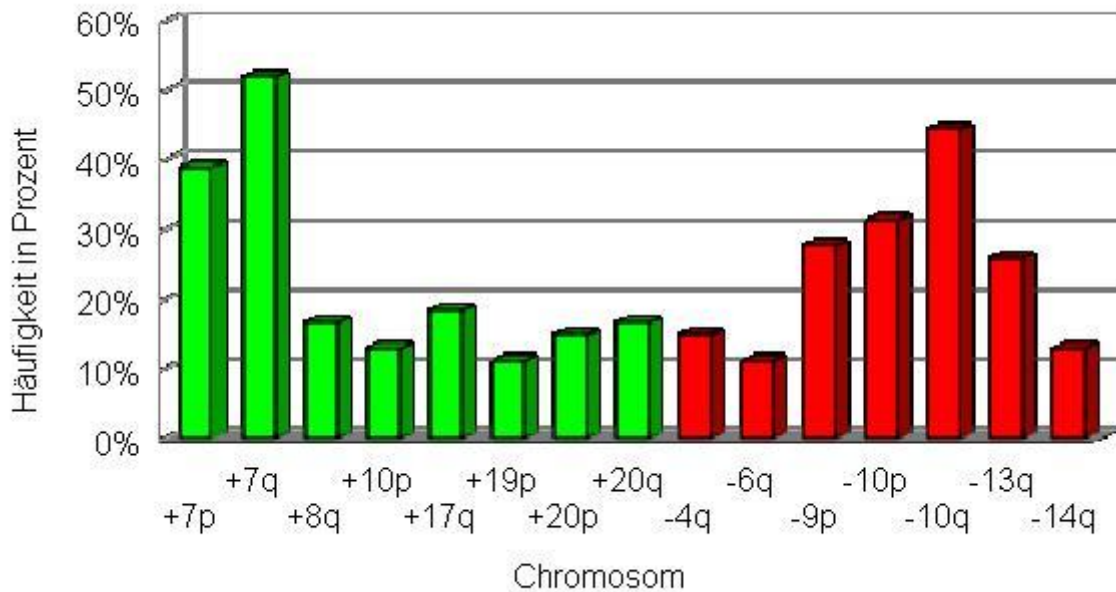
**Tabelle 3.2:** Verteilung der häufigsten festgestellten chromosomalen Aberrationen (in >10 % der Fälle) unter 54 primären WHO-Grad-III-Gliomen auf Astrozytome und Oligoastrozytome

Chromosom	Astrozytom WHO-Grad III (n = 50)	Oligoastrozytom WHO-Grad III (n = 4)
<b>7p +</b>	20 (40,0 %)	1 (25,0 %)
<b>7q +</b>	27 (54,0 %)	1 (25,0 %)
<b>8q +</b>	8 (16,0 %)	1 (25,0 %)
<b>10p +</b>	6 (12,0 %)	1 (25,0 %)
<b>17q +</b>	10 (20,0 %)	0 (0 %)
<b>19p +</b>	6 (12,0 %)	0 (0 %)
<b>20p +</b>	8 (16,0 %)	0 (0 %)
<b>20q +</b>	9 (18,0 %)	0 (0 %)
<b>4q -</b>	7 (14,0 %)	1 (25,0 %)
<b>6q -</b>	6 (12,0 %)	0 (0 %)
<b>9p -</b>	14 (28,0 %)	0 (0 %)
<b>10p -</b>	16 (32,0 %)	1 (25,0 %)
<b>10q -</b>	21 (42,0 %)	3 (75,0 %)
<b>13q -</b>	11 (22,0 %)	3 (75,0 %)
<b>14q -</b>	7 (14,0 %)	0 (0 %)

Insgesamt zeigten 45 der untersuchten Tumoren Zugewinne genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 2,46 Zugewinnen pro Tumor. Zugewinne fanden sich in der höchsten Frequenz auf Chromosom 7q (51,9 %) und 7p (38,9 %). Auch Chromosom 17q (18,5 %), 8q (16,7 %) und Chromosom 20q (16,7 %) waren besonders oft von Zugewinnen betroffen (Abb. 3.7).

Die einzige wiederkehrend nachzuweisende Amplifikation fand sich auf Chromosom 7p (16,6 %), genauer gesagt schlossen die Amplifikationen beinahe in jedem Fall die Loki 7p11 beziehungsweise 7p12 ein.

Insgesamt zeigten 38 der untersuchten Tumoren Verluste genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 2,55 Verlusten pro Tumor. Verluste fanden sich auf Chromosom 10q (44,4 %) und 10p (31,5 %). Weiterhin, in absteigender Häufigkeit, auf den Chromosomen 9p (27,8 %), 13q (25,9 %) sowie 4q (14,8 %) (Abb. 3.7).



**Abbildung 3.7:** Die häufigsten festgestellten chromosomalen Aberrationen (in >10 % der Fälle) unter 54 primären primären WHO-Grad-III-Gliomen

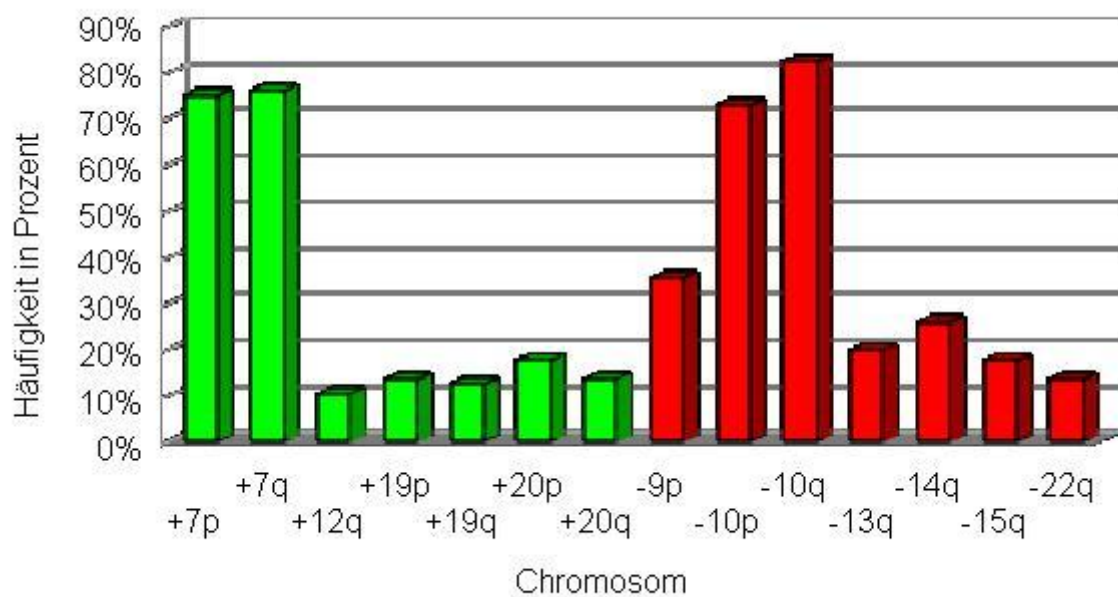
### 3.4.3 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad IV

Es wurden 96 GBM (WHO-Grad IV) mittels CGH untersucht (Anhang Tab. A.6, Seite 114). 93 der untersuchten Tumoren (96,9 %) wiesen chromosomale Imbalancen auf. In 3 Fällen (3,1 %) ließen sich keine Veränderungen nachweisen.

Insgesamt zeigten 85 der untersuchten Tumoren Zugewinne genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 2,29 Zugewinnen pro Tumor. Auch bei den untersuchten GBM waren die Chromosomen 7q mit 73 Fällen (76,0 %) und 7p mit 72 (75,0 %) am häufigsten von Zugewinnen betroffen. Weiterhin regelmäßig betroffen waren Chromosom 20p (17,7 %) und 20q (13,5 %) sowie 19p (13,5 %) und 19q (12,5 %) (Abb. 3.8).

Amplifikationen auf Chromosom 7 beziehungsweise der Loci 7p11 und 7p12 ließen sich auch bei Tumoren des WHO-Grades IV mit 19,8 % sehr häufig nachweisen. Andere Chromosomen waren nur selten betroffen, der Chromosomenarm 12q mit 4,2 % am zweithäufigsten.

Insgesamt zeigten 91 der untersuchten Tumoren Verluste genetischen Materials, bei einer durchschnittlichen Anzahl von 2,85 Verlusten pro Tumor. Verluste fanden sich auf Chromosom 10q (82,3 %) und 10p (72,9 %) sowie Chromosom 9p (35,4 %). Auch die Chromosomen 14q (26,0 %) und 13q (19,8 %) waren häufig betroffen (Abb. 3.8).



**Abbildung 3.8:** Die häufigsten festgestellten chromosomalen Aberrationen (in >10 % der Fälle) unter 96 primären GBM (WHO-Grad IV)

### 3.4.4 Genetische Alterationen primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II-IV

Insgesamt fanden sich Verluste häufiger als Zugewinne genetischen Materials (durchschnittlich 3,21 Verluste pro Tumor versus 2,77 Gewinne pro Tumor, Anhang Tab. A.7, Seite 117).

Es zeigte sich, dass Zugewinne von Chromosom 7 und Verluste von Chromosom 10 und dem kurzen Arm von Chromosom 9 bei allen Tumorgruppen die häufigsten Veränderungen darstellten. Ferner war zu beobachten, dass die besagten Veränderungen mit steigendem

WHO-Grad jeweils häufiger nachzuweisen waren. Insgesamt weniger häufig, aber bei steigendem WHO-Grad ebenso öfter zu beobachten waren Zugewinne von Chromosom 12q und Chromosom 19 sowie Verluste auf dem langen Arm der Chromosomen 14 und 15 (Tab. 3.3).

**Tabelle 3.3:** Chromosomale Veränderungen mit bei höherem WHO-Grad steigender Häufigkeit sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit und das Gesamtüberleben in 184 primären Gliomen (34 WHO-Grad II, 54 WHO-Grad III, 96 WHO-Grad IV)\*

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben
<b>7p +</b>	17,6 %	nein/nein	38,9 %	<b>ja/ja</b>	75,0 %	<b>ja/ja</b>
<b>7q +</b>	35,3 %	nein/nein	51,9 %	nein/nein	76,0 %	<b>ja/ja</b>
<b>9p -</b>	14,7 %	nein/nein	27,8 %	nein/nein	35,4 %	nein/nein
<b>10p -</b>	11,8 %	nein/nein	31,5 %	<b>ja/ja</b>	72,9 %	<b>ja/nein</b>
<b>10q -</b>	11,8 %	nein/nein	44,4 %	<b>ja/ja</b>	82,3 %	<b>ja/ja</b>
<b>12q +</b>	0,0 %	nein/nein	7,4 %	nein/nein	10,4 %	nein/nein
<b>14q -</b>	8,8 %	nein/nein	13,0 %	nein/nein	26,0 %	<b>ja/ja</b>
<b>15q -</b>	2,9 %	nein/nein	9,3 %	nein/nein	17,7 %	nein/nein
<b>19p +</b>	5,9 %	nein/nein	11,1 %	nein/nein	13,5 %	nein/nein
<b>19q +</b>	2,9 %	nein/nein	5,6 %	nein/nein	12,5 %	nein/nein

\* Aufgelistet nur die Veränderungen, welche in mindestens einer WHO-Gruppe häufiger als 10 % vorkamen.

Regelmäßig in allen WHO-Graden mit vergleichbarer Häufigkeit anzutreffende Aberrationen umfassten Zugewinne von Chromosom 20 und Verluste auf 13q sowie 22q (Tab. 3.4).



**Tabelle 3.4:** Chromosomale Veränderungen mit in den WHO-Graden II-IV vergleichbarer Häufigkeit sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit und das Gesamtüberleben in 184 primären Gliomen (34 WHO-Grad II, 54 WHO-Grad III, 96 WHO-Grad IV)\*

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben
<b>13q -</b>	14,7 %	nein/nein	25,9 %	nein/nein	19,8 %	nein/nein
<b>20p +</b>	5,9 %	nein/nein	14,8 %	nein/nein	17,7 %	nein/nein
<b>20q +</b>	5,9 %	nein/nein	16,7 %	nein/nein	13,5 %	nein/nein
<b>22q -</b>	11,8 %	nein/nein	9,3 %	nein/nein	13,5 %	nein/nein

\* Aufgelistet nur die Veränderungen, welche in mindestens einer WHO-Gruppe häufiger als 10 % vorkamen.

Auch fanden sich chromosomale Veränderungen, die bei Gliomen höheren WHO-Grades seltener vorkamen als bei denen niedrigeren Grades. Dazu zählten Zugewinne auf 8q sowie Verluste auf 1p, 4q, 6q und 19q (Tab. 3.5).

**Tabelle 3.5:** Chromosomale Veränderungen mit bei höherem WHO-Grad sinkender Häufigkeit sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit und das Gesamtüberleben in 184 primären Gliomen (34 WHO-Grad II, 54 WHO-Grad III, 96 WHO-Grad IV)\*

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	Statistische Signifikanz ja/nein für rezidivfreie Zeit/Gesamtüberleben
<b>1p -</b>	17,6 %	nein/nein	9,3 %	<b>ja/ja</b>	4,2 %	nein/nein
<b>4q -</b>	26,5 %	nein/nein	14,8 %	nein/nein	4,2 %	nein/nein
<b>6q -</b>	14,7 %	<b>ja/nein</b>	11,1 %	nein/nein	9,4 %	nein/nein
<b>8q +</b>	17,6 %	nein/nein	16,7 %	<b>ja/nein</b>	6,3 %	nein/nein
<b>19q -</b>	14,7 %	<b>ja/nein</b>	7,4 %	<b>ja/ja</b>	3,1 %	nein/nein

\* Aufgelistet nur die Veränderungen, welche in mindestens einer WHO-Gruppe häufiger als 10 % vorkamen.

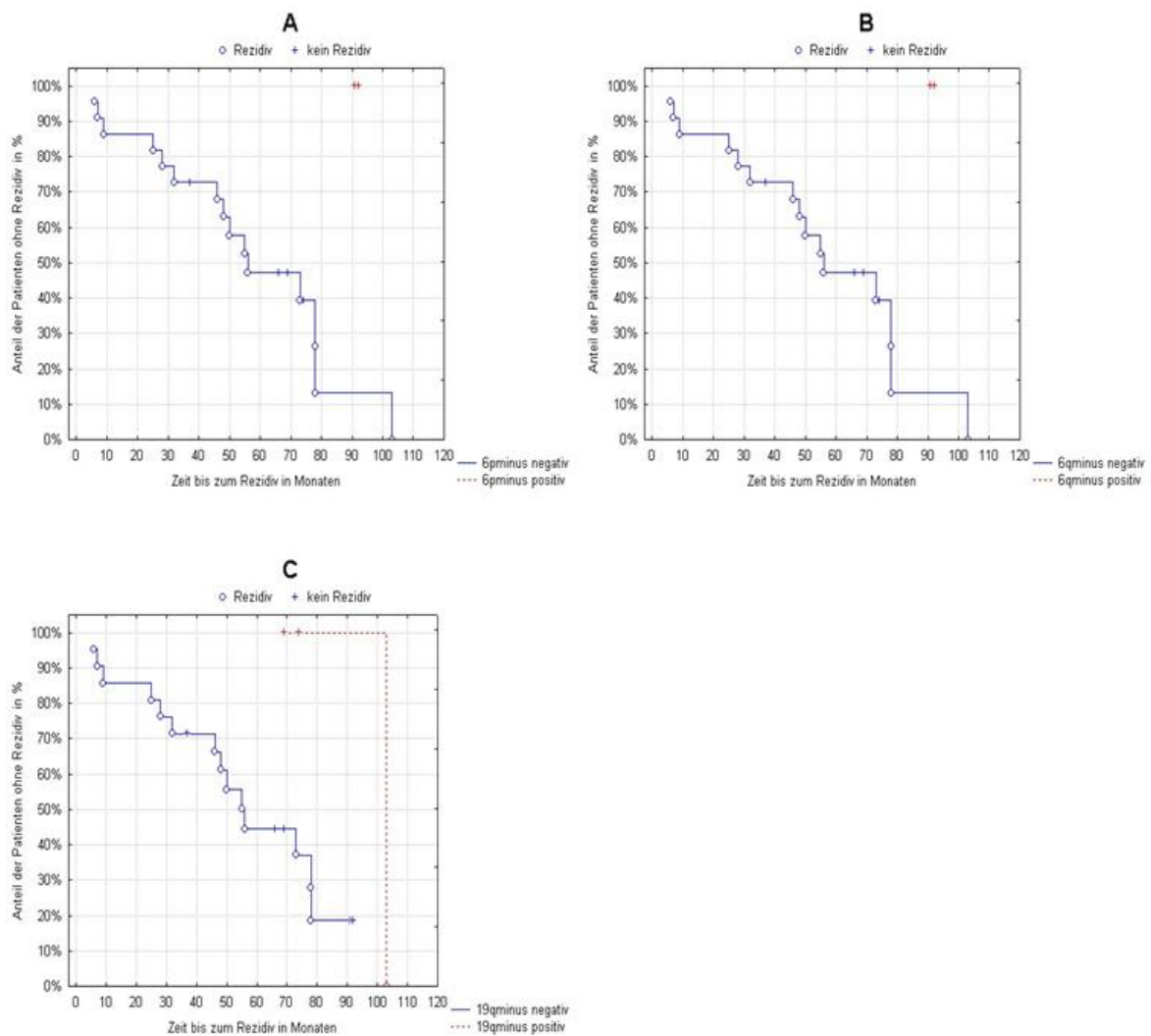
## 3.5 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen

Der Einfluss von Zugewinnen und Verlusten auf die rezidivfreie Zeit wurde per Logrank-Test auf die statistische Signifikanz hin untersucht.

### 3.5.1 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad II

Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades II und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.1 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117).

Zugewinne genetischen Materials zeigten keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die rezidivfreie Zeit. Jedoch korrelierten sowohl Verluste auf den Chromosomen 6p ( $p = 0,0199$ ) und 6q ( $p = 0,0199$ ) als auch solche auf dem langen Arm von Chromosom 19 ( $p = 0,0322$ ) mit einer verlängerten rezidivfreien Zeit (Abb. 3.9). Da diese Gruppen allerdings nur 2 (für Chromosom 6p und 6q) bzw. 3 (für Chromosom 19q) die chromosomale Veränderung aufweisende Tumoren enthielten, ist auch hier die Wertigkeit der Aussage unklar. Anhang Tab. A.8 (Seite 120) vergleicht die rezidivfreie Zeit in Monaten der Patienten mit den Aberrationen mit denen der Patienten ohne die Aberrationen.

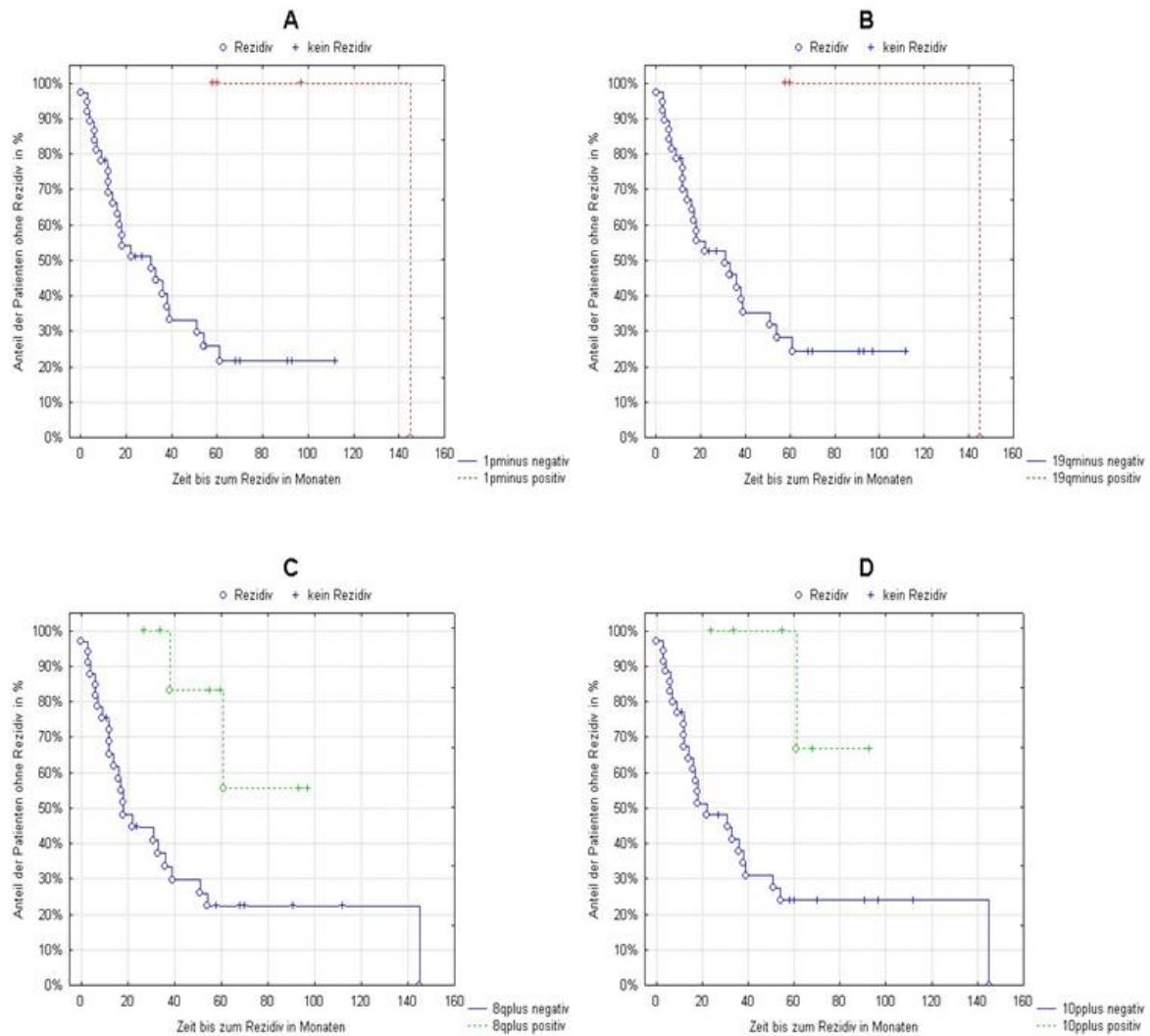


**Abbildung 3.9:** Kaplan-Meier-Kurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit positivem Einfluss auf die rezidivfreie Zeit in primären Astrozytomen WHO-Grad II. A: mit ( $n = 2$ ) und ohne ( $n = 22$ ) Verlusten auf Chromosom 6p; B: mit ( $n = 2$ ) und ohne ( $n = 22$ ) Verlusten auf Chromosom 6q; C: mit ( $n = 3$ ) und ohne ( $n = 21$ ) Verlusten auf Chromosom 19q

### 3.5.2 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad III

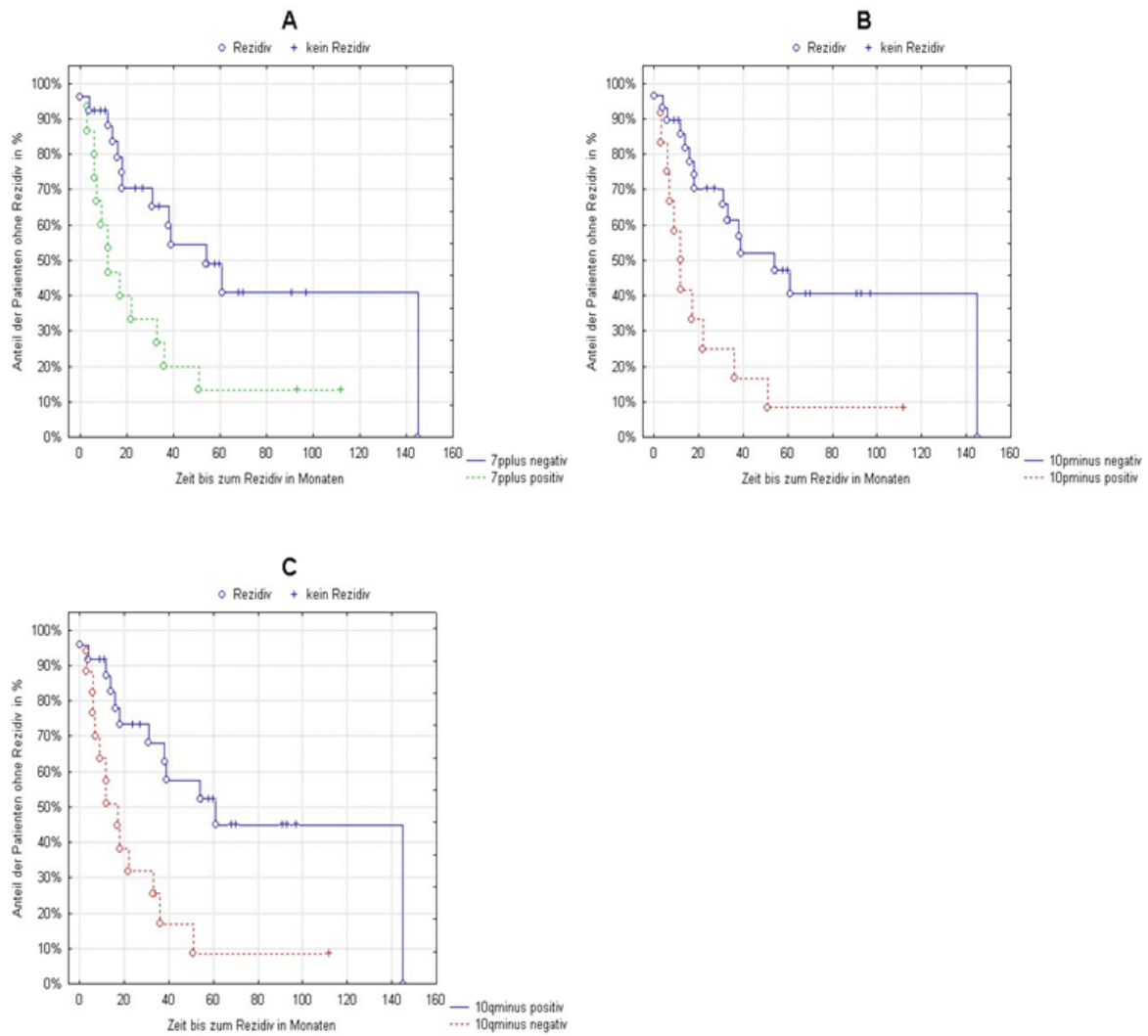
Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades III und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.2 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117).

Auch Tumoren des WHO-Grades III wiesen eine signifikant verlängerte rezidivfreie Zeit auf, wenn sie von Verlusten auf Chromosom 19q ( $p = 0,0119$ ) betroffen waren. Weiterhin verlängerten Verluste auf 1p ( $p = 0,0027$ ) sowie Zugewinne auf 8q ( $p = 0,0043$ ) und 10p ( $p = 0,0065$ ) die rezidivfreie Zeit signifikant (Abb. 3.10). Da allerdings nur jeweils 3 Tumoren von Verlusten auf 19q und 1p betroffen waren, ist der positive prognostische Einfluss dieser Veränderungen hier nicht eindeutig zu verifizieren. Mit 8 bzw. 6 gültigen Beobachtungen von Zugewinnen auf 8q respektive 10p ist ein tatsächlicher Zusammenhang hier wahrscheinlicher. Anhang Tab. A.9 (Seite 121) vergleicht die rezidivfreie Zeit in Monaten der Patienten mit den Aberrationen mit denen der Patienten ohne die Aberrationen.



**Abbildung 3.10:** Kaplan-Meier-Kurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit positivem Einfluss auf die rezidivfreie Zeit in primären Astrozytomen WHO-Grad III. A: mit ( $n = 4$ ) und ohne ( $n = 37$ ) Verlusten auf Chromosom 1p; B: mit ( $n = 3$ ) und ohne ( $n = 38$ ) Verlusten auf Chromosom 19q; C: mit ( $n = 8$ ) und ohne ( $n = 33$ ) Zugewinnen auf Chromosom 8q; D: mit ( $n = 6$ ) und ohne ( $n = 35$ ) Zugewinnen auf Chromosom 10p

Zugewinne auf dem Chromosomenarm 7p ( $p = 0,0128$ ) und Verluste auf 10q ( $p = 0,0055$ ) sowie 10p ( $p = 0,0087$ ) korrelierten signifikant mit einer kürzeren rezidivfreien Zeit (Abb. 3.11).

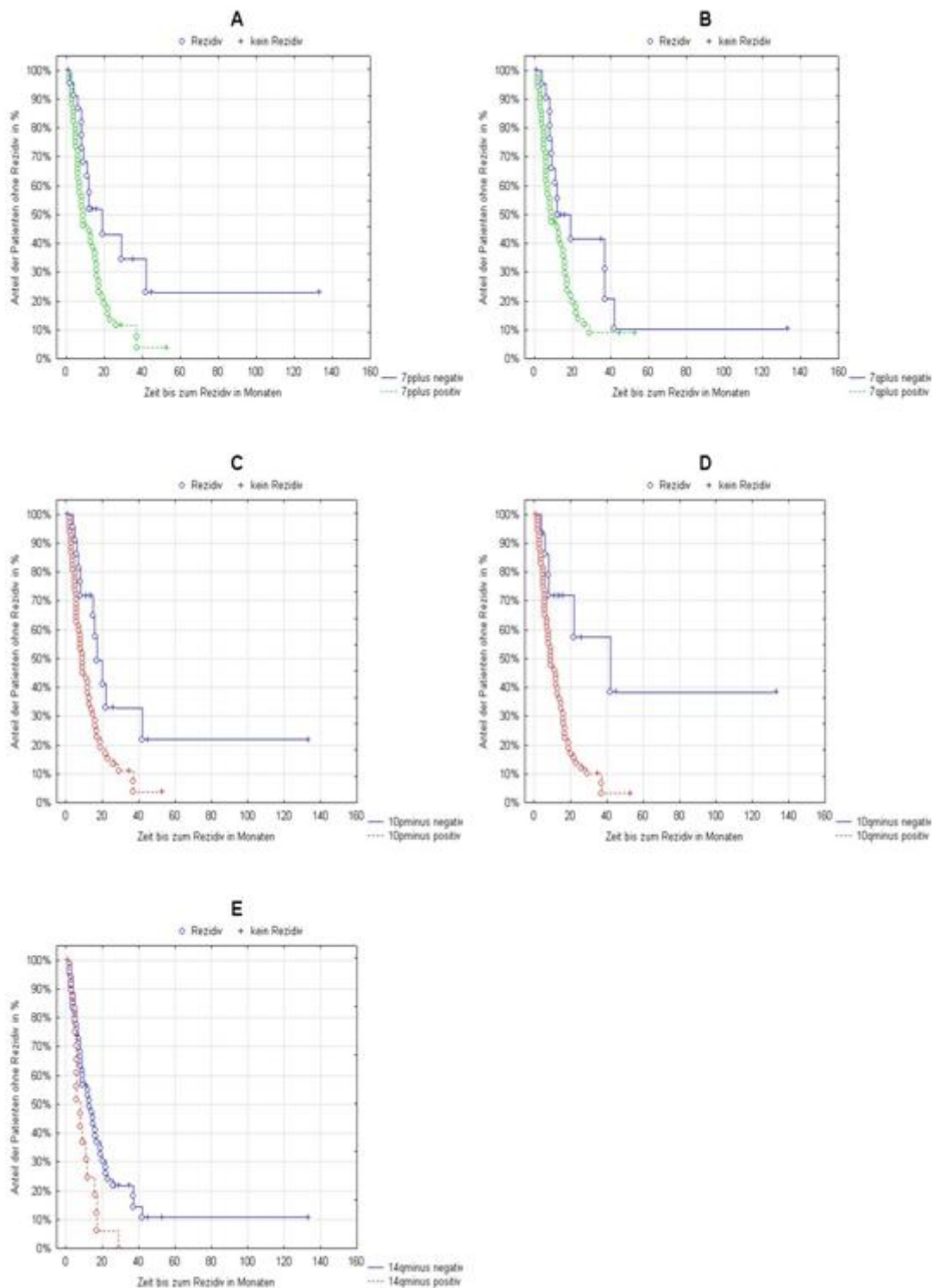


**Abbildung 3.11:** Kaplan-Meier-Kurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit negativem Einfluss auf die rezidivfreie Zeit in primären Astrozytomen WHO-Grad III. A: mit ( $n = 15$ ) und ohne ( $n = 26$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7p; B: mit ( $n = 12$ ) und ohne ( $n = 29$ ) Verlusten auf Chromosom 10p; C: mit ( $n = 17$ ) und ohne ( $n = 24$ ) Verlusten auf Chromosom 10q

### 3.5.3 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die rezidivfreie Zeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad IV

Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades IV und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.3 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117).

Zugewinne auf dem kurzen ( $p = 0,0157$ ) und langen ( $p = 0,0321$ ) Arm von Chromosom 7 und Verluste auf 10q ( $p = 0,0008$ ) und 10p ( $p = 0,0049$ ) waren im Gegensatz zu Tumoren ohne derartige Veränderungen mit einer signifikant kürzeren rezidivfreien Zeit vergesellschaftet. Dies war auch der Fall, wenn der Tumor einen Verlust auf dem Chromosomenarm 14q ( $p = 0,0353$ ) aufwies (Abb. 3.12). Chromosomale Veränderungen mit einem positiven Einfluss auf die rezidivfreie Zeit zeigten sich in der Gruppe der WHO-Grad-IV-Tumoren nicht. Anhang Tab. A.10 (Seite 122) vergleicht die rezidivfreie Zeit in Monaten der Patienten mit den Aberrationen mit denen der Patienten ohne die Aberrationen.



**Abbildung 3.12:** Kaplan-Meier-Kurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit negativem Einfluss auf die rezidivfreie Zeit in primären Astrozytomen WHO-Grad IV. A: mit ( $n = 69$ ) und ohne ( $n = 24$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7p; B: mit ( $n = 71$ ) und ohne ( $n = 22$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7q; C: mit ( $n = 69$ ) und ohne ( $n = 24$ ) Verlusten auf Chromosom 10p; D: mit ( $n = 77$ ) und ohne ( $n = 16$ ) Verlusten auf Chromosom 10q; E: mit ( $n = 25$ ) und ohne ( $n = 68$ ) Verlusten auf Chromosom 14q



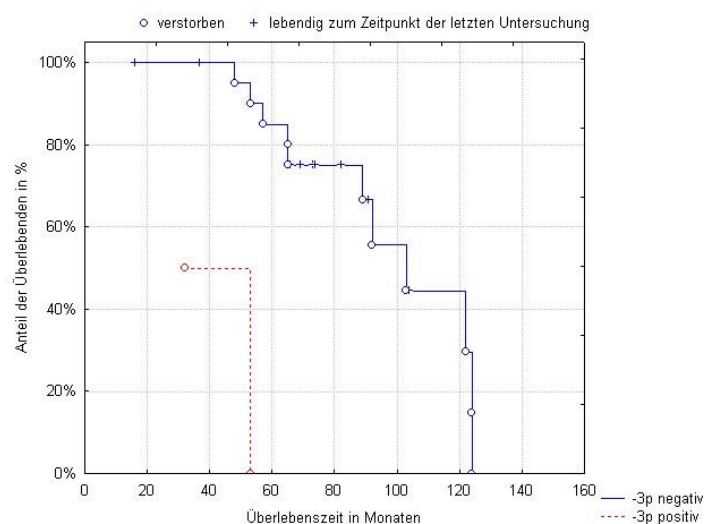
### 3.6 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen

Der Einfluss von Zugewinnen und Verlusten auf das Gesamtüberleben wurde per Logrank-Test auf die statistische Signifikanz hin untersucht (Anhang Tab. A.11, Seite 123).

#### 3.6.1 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad II

Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades II und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.1 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117) sowie Anhang Tab. A.11 (Seite 123).

Lediglich Verluste auf dem kurzen Arm von Chromosom 3 zeigten eine statistisch signifikante negative Korrelation mit dem Gesamtüberleben ( $p = 0,0436$ ) (Abb. 3.13). Da die Gruppe der Tumoren mit dieser Aberration jedoch nur 2 Tumoren umfasste, kann hier keine valide Aussage gemacht werden. Anhang Tab. A.12 (Seite 126) vergleicht die Gesamtüberlebenszeiten in Monaten der Patienten mit der Aberration mit denen der Patienten ohne die Aberration.

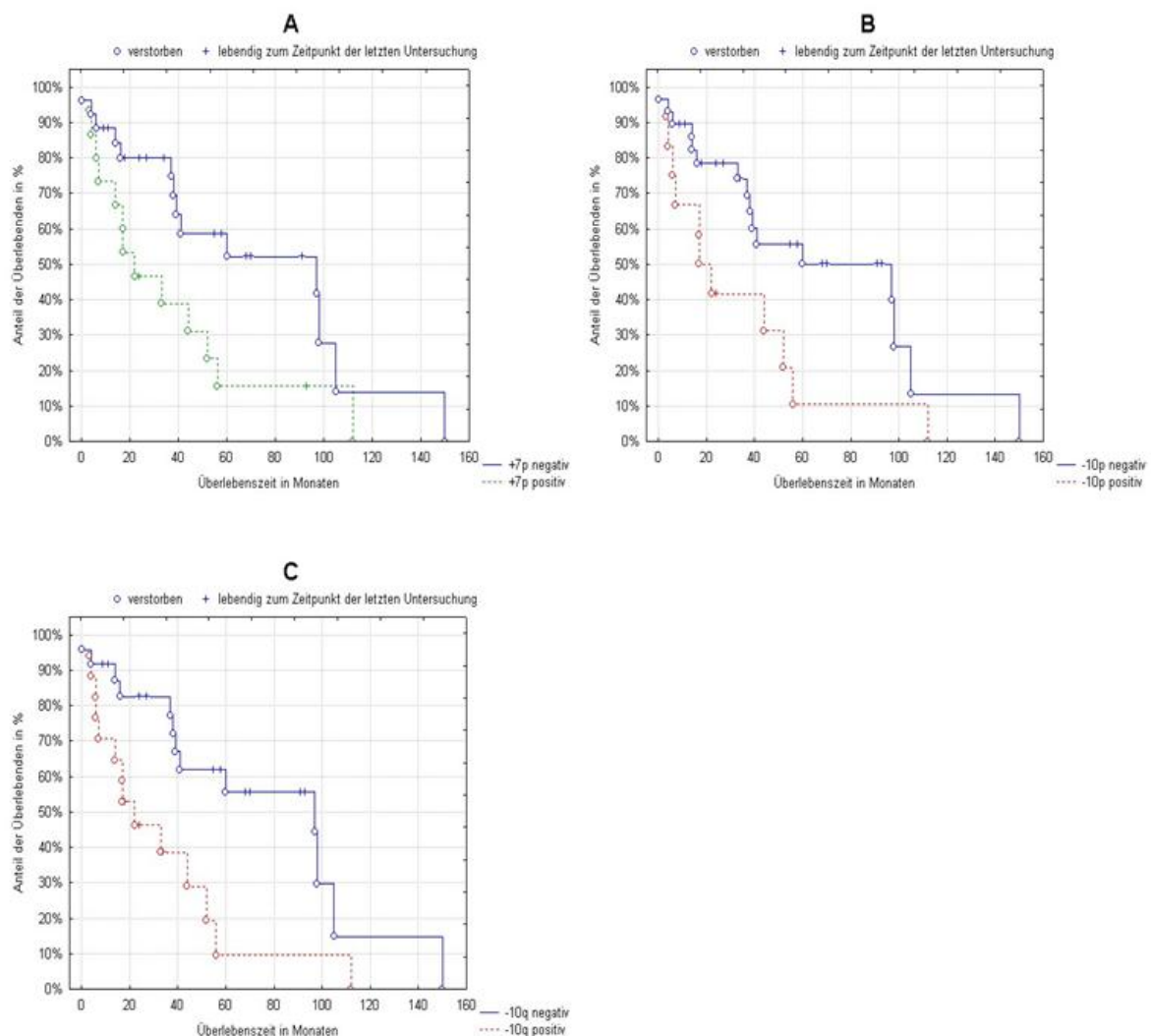


**Abbildung 3.13:** Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Patienten mit primären Astrozytomen WHO-Grad II mit ( $n = 2$ ) und ohne ( $n = 22$ ) Verlust auf Chromosom 3p

### 3.6.2 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad III

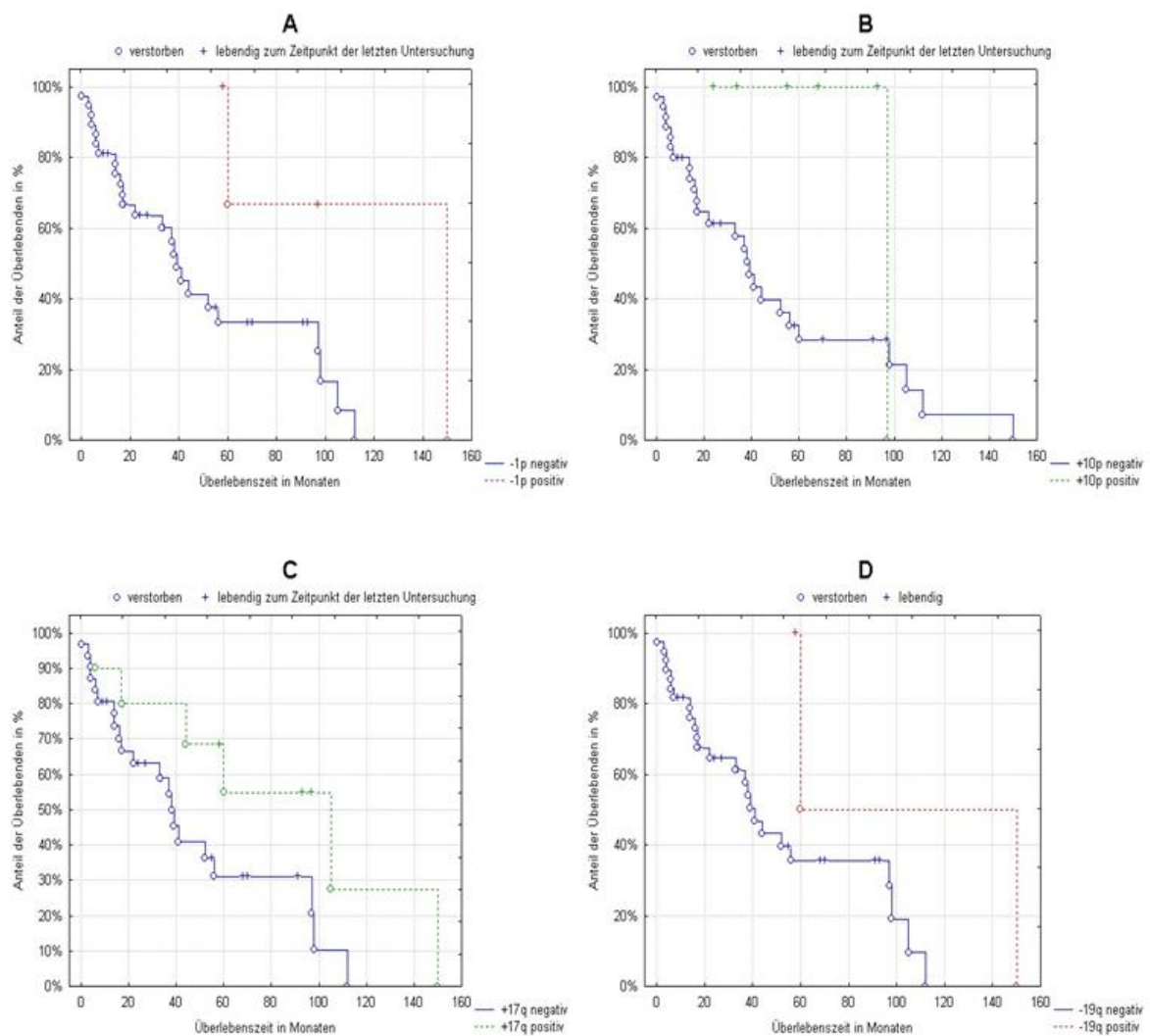
Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades III und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.2 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117) sowie Anhang Tab. A.11 (Seite 123).

Ein statistisch signifikanter negativer Einfluss von genetischen Imbalancen auf das Gesamtüberleben konnte für Zugewinne auf Chromosom 7p ( $p = 0,0393$ ) und Verluste auf Chromosom 10q ( $p = 0,0150$ ) und 10p ( $p = 0,0441$ ) aufgezeigt werden (Abb. 3.14).



**Abbildung 3.14:** Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit negativem Einfluss auf das Gesamtüberleben in primären Astrozytomen WHO-Grad III. A: mit ( $n = 15$ ) und ohne ( $n = 26$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7p; B: mit ( $n = 12$ ) und ohne ( $n = 29$ ) Verlusten auf Chromosom 10p; C: mit ( $n = 17$ ) und ohne ( $n = 24$ ) Verlusten auf Chromosom 10q

Verluste auf Chromosom 1p ( $p = 0,0048$ ) und 19q ( $p = 0,0192$ ) sowie Zugewinne auf Chromosom 10p ( $p = 0,0381$ ) und 17q ( $p = 0,0409$ ) waren derweil signifikant mit einer besseren Prognose vergesellschaftet (Abb. 3.15). Es muss allerdings angemerkt werden, dass nur 3 Tumoren Verluste auf 1p und 19q aufwiesen, so dass die Aussagekraft fraglich ist. Anhang Tab. A.13 (Seite 127) vergleicht die Überlebenszeiten in Monaten der Patienten mit den chromosomalen Veränderungen mit denen der Patienten ohne die Veränderungen.

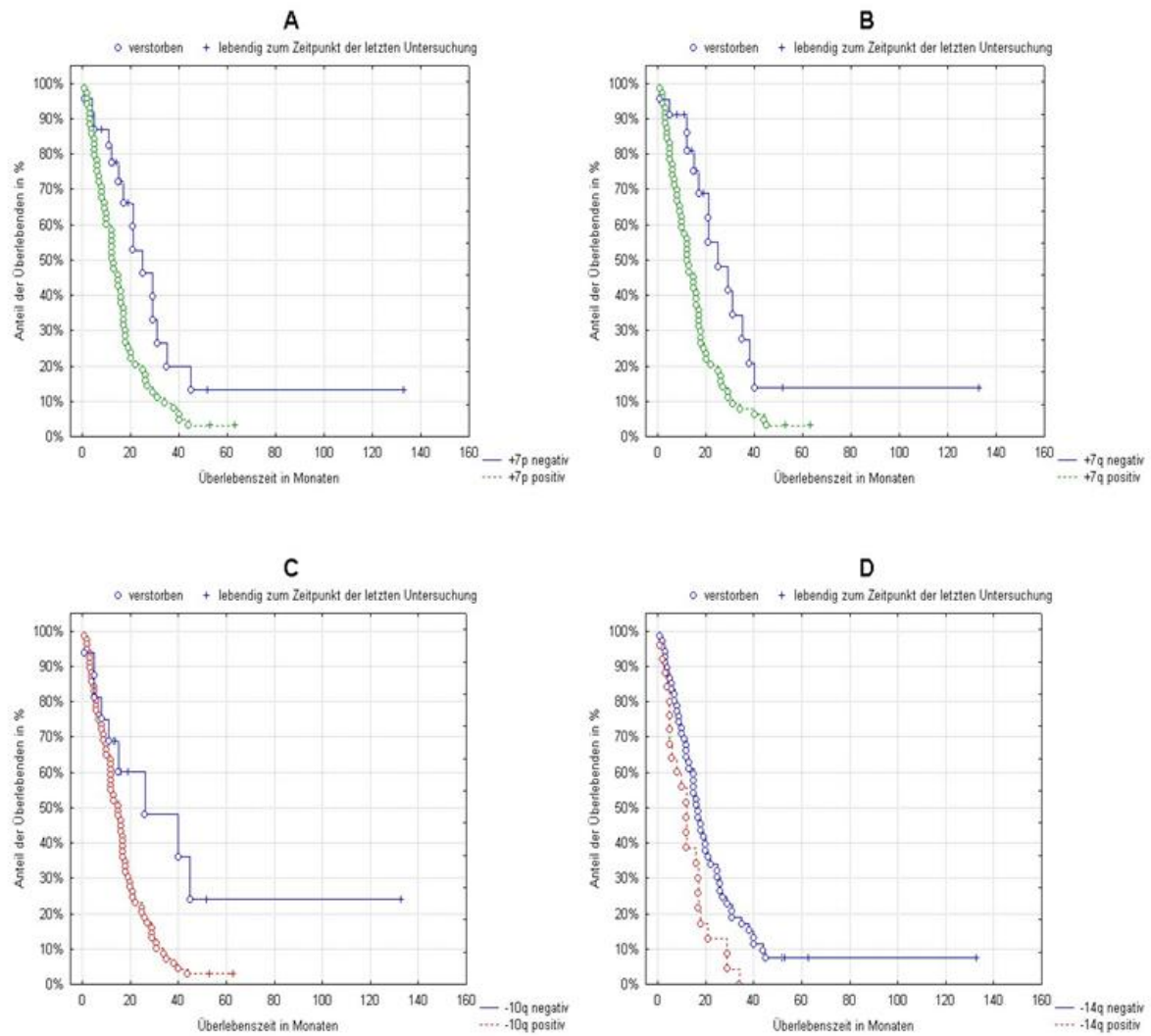


**Abbildung 3.15:** Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit positivem Einfluss auf das Gesamtüberleben in primären Astrozytomen WHO-Grad III. A: mit ( $n = 4$ ) und ohne ( $n = 37$ ) Verlusten auf Chromosom 1p; B: mit ( $n = 6$ ) und ohne ( $n = 35$ ) Zugewinnen auf Chromosom 10p; C: mit ( $n = 10$ ) und ohne ( $n = 31$ ) Zugewinnen auf Chromosom 17q; D: mit ( $n = 3$ ) und ohne ( $n = 38$ ) Verlusten auf Chromosom 19q

### 3.6.3 Einfluss chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären astrozytären Gliomen WHO-Grad IV

Zur Anzahl der Gesamtaberrationen der Tumoren des WHO-Grades IV und der statistischen Signifikanz ihres prognostischen Einflusses siehe Kapitel 3.4.3 und Anhang Tab. A.7 (Seite 117) sowie Anhang Tab. A.11 (Seite 123).

Zugewinne auf dem langen ( $p = 0,0012$ ) und kurzen ( $p = 0,0038$ ) Arm von Chromosom 7 und Verluste auf 10q ( $p = 0,0108$ ) waren auch in der Gruppe der GBM mit einer signifikant schlechteren Prognose verbunden. Ferner zeigte sich auch eine schlechtere Prognose, wenn der lange Arm von Chromosom 14 ( $p = 0,0223$ ) von Verlusten betroffen war (Abb. 3.16). Untergruppen von chromosomalen Veränderungen, die mit einem verlängerten Gesamtüberleben einhergingen, konnten nicht beobachtet werden. Anhang Tab. A.14 (Seite 128) vergleicht die Gesamtüberlebenszeiten in Monaten der Patienten mit den Aberrationen mit denen der Patienten ohne die Aberrationen.



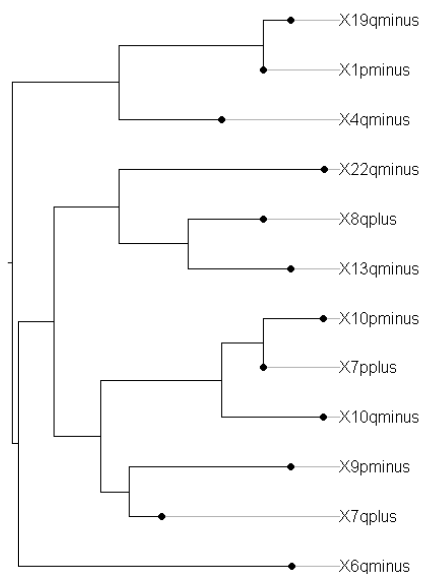
**Abbildung 3.16:** Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Patienten mit chromosomalen Imbalancen mit negativem Einfluss auf das Gesamtüberleben in primären Astrozytomen WHO-Grad IV. A: mit ( $n = 69$ ) und ohne ( $n = 23$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7p; B: mit ( $n = 70$ ) und ohne ( $n = 22$ ) Zugewinnen auf Chromosom 7q; C: mit ( $n = 76$ ) und ohne ( $n = 16$ ) Verlusten auf Chromosom 10q; D: mit ( $n = 25$ ) und ohne ( $n = 67$ ) Verlusten auf Chromosom 14q

### 3.7 Identifizierung onkogenetischer Baummodelle

Mit den in der CGH gewonnenen Daten der 184 astrozytären Tumoren der verschiedenen WHO-Grade wurden onkogenetische Baummodelle aus den häufigsten Imbalancen erstellt. Verwendet wurden jeweils die Chromosomenarme, bei denen mindestens 10 % der Patienten eine Veränderung aufwiesen.

#### 3.7.1 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II

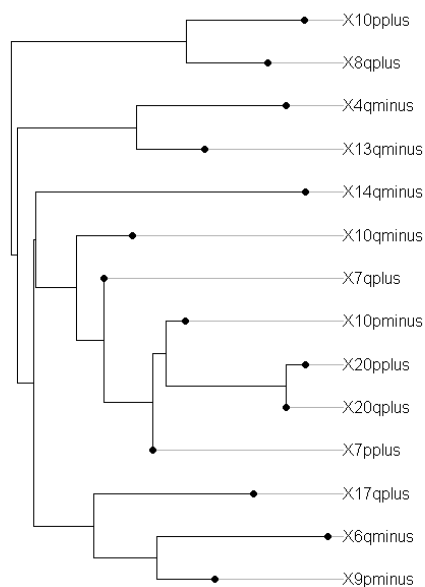
In Tumoren des WHO-Grades II fanden sich 12 Imbalancen in wiederholter Häufigkeit: -19q, -1p, -4q, -22q, +8q, -13q, -10p, +7p, -10q, -9p, +7q und -6q. Die resultierenden onkogenetischen Baummodelle zeigten 5 Cluster auf (Abb. 3.17). Der erste charakterisiert durch Verluste auf 4q (zusätzlich auch mit Verlusten auf 19q und 1p), ein weiterer mit Verlusten auf 22q (ferner auch mit Zugewinnen auf 8q sowie Verlusten auf 13q) und der Dritte gekennzeichnet durch Verluste auf 10q (unter Einbezug von Verlusten auf 10p und Gewinnen an 7p). Der vierte Cluster zeigte Gewinne auf 7q und Verluste auf 9p während der letzte zytogenetische Cluster solitäre Verluste von 6q aufwies.



**Abbildung 3.17:** Onkogenetisches Baummodell des zytogenetischen Progresses primärer Astrozytome des WHO-Malignitätsgrades II

### 3.7.2 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad III

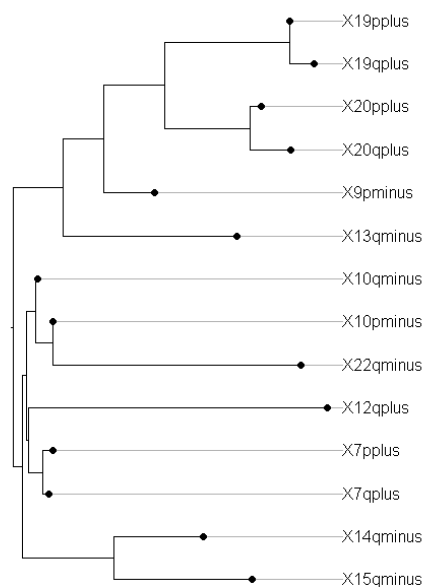
Wiederholt nachzuweisende Veränderungen in Tumoren des WHO-Grades III waren +10p, +8q, -4q, -13q, -14q, -10q, +7q, -10p, +20p, +20q, +7p, +17q, -6q und -9p. Für Tumoren dieses Malignitätsgrades konnten 4 Gruppen von Baummodellen herausgestellt werden (Abb. 3.18). Zugewinne auf 10p und 8q definierten die erste, Verluste von 4q und 13q die zweite. Eine dritte Gruppe zeichnete sich durch Verluste von 14q aus (unter Einbezug von Zugewinnen auf 7q, 20p, 20q und 7p sowie Verlusten von 10q und 10p), währenddessen die vierte Gruppe durch Zugewinne auf 17q mit gleichzeitigen Verlusten von 6q und 9p charakterisiert wurde.



**Abbildung 3.18:** Onkogenetisches Baummodell des zytogenetischen Progresses primärer Astrozytome des WHO-Grades III

### 3.7.3 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad IV

Die 14 häufigsten Veränderungen waren +19p, +19q, +20p, +20q, -9p, -13q, -10q, -10p, -22q, +12q, +7p, +7q, -14q und -15q. Die resultierenden onkogenetischen Baummodelle zeigten 4 Cluster auf (Abb. 3.19). Der erste Cluster zeigte Verlust von 13q (zusammen mit Zugewinnen auf 20p, 20q, 19p und 19q sowie Verlusten von 9p). Der Zweite wurde gekennzeichnet durch Verluste von 10p, 10q und 22q während ein weiterer Cluster Zugewinne auf 12q mit gleichzeitigen Gewinnen auf 7p und 7q zeigte. Ein Verlust von genetischem Material der langen Armen der Chromosomen 14 und 15 charakterisierte einen vierten Cluster.

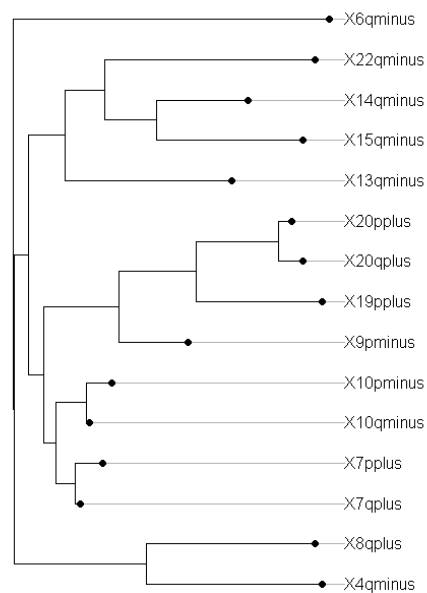


**Abbildung 3.19:** Onkogenetisches Baummodell des zytogenetischen Progresses primärer Astrozytome des WHO-Malignitätsgrades IV



### 3.7.4 Onkogenetisches Baummodell primärer astrozytärer Gliome WHO-Grad II-IV

Die häufigsten Veränderungen waren -6q, -22q, -14q, -15q, -13q, +20p, +20q, +19p, -9p, -10p, -10q, +7p, +7q, +8q und -4q. Die resultierenden onkogenetischen Baummodelle zeigten 5 Cluster auf (Abb. 3.20): Einer gekennzeichnet durch Verluste von 6q (als einzige chromosomale Veränderung), ein weiterer durch Verluste von 13q (unter Einbezug von Verlusten an 14q, 15q und 22q), der Dritte durch Verluste auf Chromosom 9p (mit gleichzeitigen Zugewinnen an 20p, 20q und 19p). Der vierte Cluster wurde charakterisiert durch Zugewinne auf 7q (zusammen mit Zugewinnen auf 7p sowie Verlusten von 10p und 10q), während die letzte Gruppe Zugewinne auf 8q sowie Verluste von 4q aufwies.



**Abbildung 3.20:** Onkogenetisches Baummodell des zytogenetischen Progresses primärer Astrozytome der WHO-Grade II-IV

## 4 Diskussion

Die WHO-Klassifikation der Tumoren des zentralen Nervensystems ist nach wie vor die am weitesten verbreitete und verlässlichste Methode, um Aussagen über das biologische und klinische Verhalten sowie die Prognose von Patienten mit Neoplasien des zentralen Nervensystems zu treffen. So können Tumoren des WHO-Grades I in der Regel durch eine chirurgische Resektion geheilt werden, während höher maligne auch nach operativer Entfernung fast unausweichlich zum Rezidiv führen bzw. zum Progress zu stärker entdifferenzierten Entitäten neigen, wenn auch nach mitunter sehr unterschiedlichen Latenzzeiten (Ohgaki et Kleihues, 2005). Dem Rechnung tragend reichen die medianen Überlebenszeiten beispielsweise von 5 - 8 Jahren bei diffusen Astrozytomen des WHO-Grades II bis zu nur 12 Monaten bei GBM (WHO-Grad IV) (Riemenschneider und Reifenberger, 2009; Stupp et al., 2005; Houillier et al., 2006).

Jedoch kann eben diese auf rein histomorphologischen Gesichtspunkten basierende Klassifikation in der klinischen Praxis zu Schwierigkeiten führen, da sie teilweise subjektiven Kriterien unterworfen ist und biologisch und histogenetisch sowie prognostisch unterschiedliche Tumorentitäten mitunter in gleiche Kategorien, basierend auf dem Malignitätsgrad nach WHO, einordnet (Feiden und Feiden, 2008; Kros et al., 2007). So konnten zum Beispiel Gravendeel et al. (2009) zeigen, dass Astrozytome unterschiedlichen WHO-Grades eine ähnliche Prognose aufwiesen, wenn sie ein ähnliches genetisches Muster zeigten.

Daher spielen zur besseren Charakterisierung der Tumoren neben etablierten Parametern wie klinischem Verhalten und Histologie auch immunhistochemische und molekulargenetische Eigenschaften eine zunehmende Rolle (Yip et al., 2008). Hierzu haben besonders neuere, zur Untersuchung des Gesamtgenoms geeignete Techniken, wie z.B. die komparative genomische Hybridisierung beigetragen, die für die Identifikation von bislang unbekanntem Tumorsuppressor- und Protoonkogenen geeignet ist. Mit der Absicht, diese Techniken in den klinischen Alltag zu integrieren, beschrieben bereits mehrere Autoren distinkte, molekulargenetisch definierte Subgruppen von Tumoren des zentralen Nervensystems (Maher et al., 2006; Tada et al., 2001; Phillips et al., 2006; Lee et al., 2008; Gravendeel et al., 2009). Jedoch konnten bis jetzt nur wenige hochsignifikante Marker identifiziert werden und noch weniger solche, die sich für die klinische Routine eignen.

Mit einer Gesamtzahl von 184 untersuchten astrozytären Gliomen ist es das Ziel dieser Arbeit, die bestehenden Erkenntnisse über die chromosomalen Muster dieser Entitäten und deren Einfluss auf das klinische Verhalten zu ergänzen und hinsichtlich ihrer Aussagekraft zu untermauern.

Als Einschlusskriterien für die Studie galten dabei die histologische Zuordnung der Tumoren zu Gliomen astrozytärer Herkunft sowie als klinisches Kriterium die Klassifikation als Primärtumor.

#### 4.1 Methodische Stärken und Schwächen der CGH

Die komparative genomische Hybridisierung erlaubt im Gegensatz zu vielen anderen molekulargenetischen Untersuchungsmethoden, Über- und Unterrepräsentationen des gesamten Genoms aufzudecken. Dabei ist es das Ziel, durch den Vergleich von Geno- und Phänotyp die genetische Charakterisierung von Tumoren zu verbessern und die morphologische Diagnostik zu ergänzen. Umfassende Untersuchungen konnten bereits in der Vergangenheit in bestimmten Tumorentitäten immer wiederkehrende, teilweise spezifische Veränderungen nachweisen, unter anderem auch in Gliomen. Es konnten zwar keine mit 100 %iger Wahrscheinlichkeit vorkommende Aberration aufgezeigt werden, jedoch waren in Untersuchungen verschiedenster Autoren durchaus rekurrierende genetische Muster zu finden. Auch scheinen bestimmte Imbalancen mit bestimmten morphologischen und biologischen Phänotypen verbunden zu sein. Ein Beispiel hierfür wurde mit der erhöhten EGFR-Expression bei Vorliegen einer Vermehrung genetischen Materials auf Chromosom 7 (dem Sitz des EGFR-Gens) gezeigt (Romeike et al., 2001).

Jedoch ist die Aussage der CGH-Analyse in manchen Fällen limitiert und die Verifizierung durch zusätzliche Methoden kann notwendig werden. Die CGH kann nur chromosomale Nettogewinne oder -verluste aufzeigen, balancierte Veränderungen wie Inversionen oder balancierte Translokationen werden jedoch nicht erfasst (Forozan et al., 1997). Auch erlaubt die Auflösung der Methode nicht das Aufspüren von zum Beispiel Mikrodeletionen oder Punktmutationen.

Bereits während der Präanalytik sind zahlreiche systematische und zufällige Fehler möglich, welche die Präzision der Ergebnisse potenziell beeinflussen können. So spielt beispielsweise

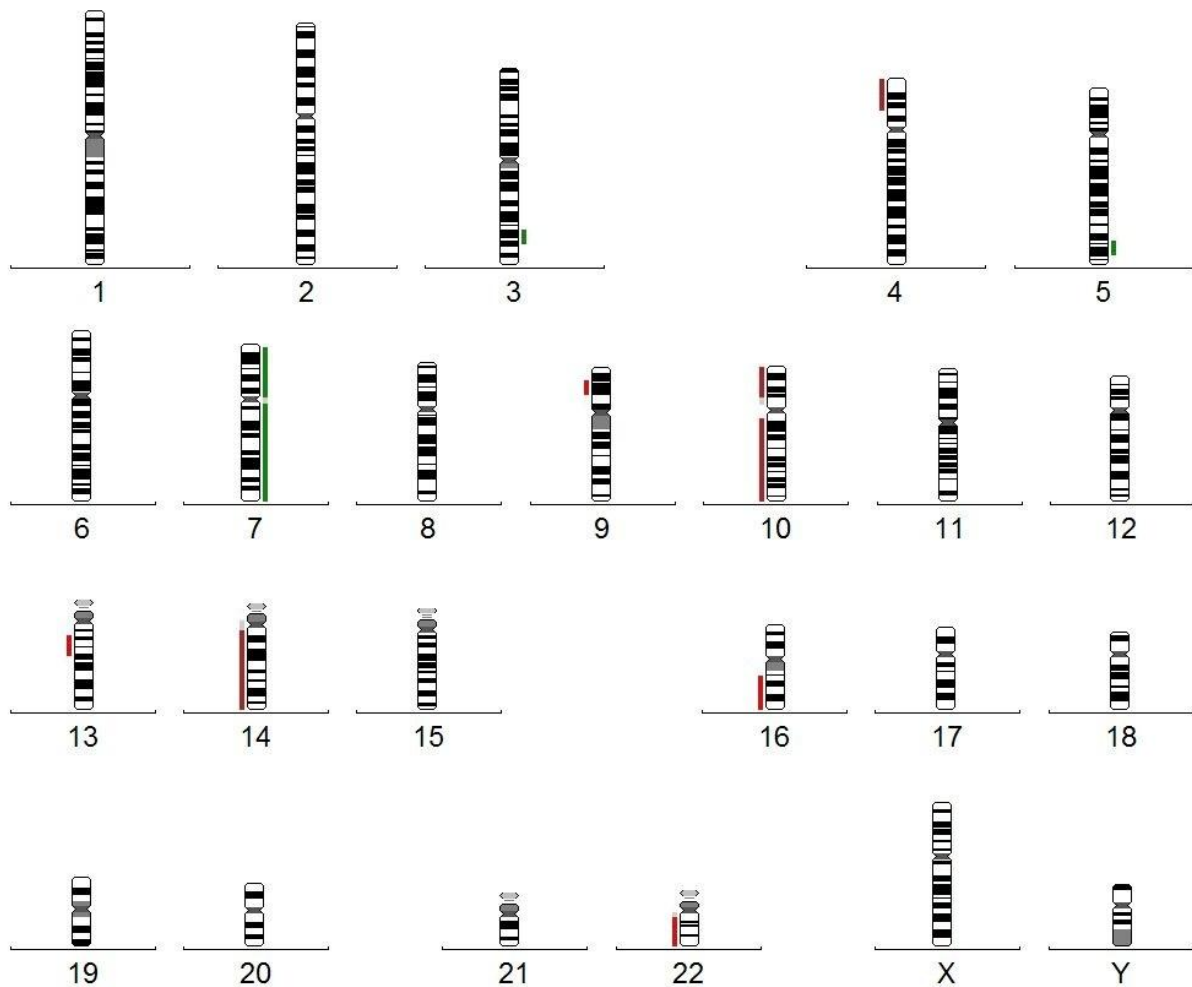
die Qualität der verwendeten DNS eine wichtige Rolle (James et al., 1999). Neben qualitativ (zumeist) höherwertigem Frischgewebe kann nämlich auch paraffinfixiertes Gewebe für die CGH herangezogen werden. Hier können aber die Art des zur Fixierung des Gewebes benutzten Agens, die Dauer der Fixierung oder das Alter des fixierten Gewebes und dessen Lagerungsbedingungen einen negativen Einfluss auf die Qualität der DNS haben. Auch kann die Güte des Ausgangsmaterials durch Faktoren wie Art und Menge des verwendeten Gewebes sowie der Länge der zu vermehrenden DNS-Abschnitte beeinflusst werden (Santos et al., 2008; Fan und Gulley, 2001).

Die Qualität der Metaphasenchromosomen sowie die der Hybridisierung der Proben- bzw. Referenz-DNS auf diese Chromosomen sind weitere potenzielle Einflüsse auf die CGH-Ergebnisse. Die Qualitätsmerkmale der hybridisierten Metaphasenchromosomen müssen den unter Kapitel 2.4.1 beschriebenen und von Kallioniemi OP et al. (1994) empfohlenen Kriterien entsprechen.

Um die Zuverlässigkeit der erhaltenen Ergebnisse zu steigern, wurden für diese Arbeit jeweils mindestens 20 Metaphasen pro Fall ausgewertet, wobei nach du Manoir et al. (1995) die Auswertung von 5 bis 12 Metaphasen zur Gewinnung aussagekräftiger Ergebnisse ausreichen würde.

Ebenso wie die Durchführung der CGH ist auch die Auswertung der Ergebnisse, besonders bei in der Praxis kaum zu vermeidenden Qualitätsschwankungen, von der Erfahrung des Beurteilers abhängig. Das vordringlichste Problem besteht hierbei in der manuellen Übertragung der im Computer erzeugten Summenideogramme (Beispiel in Abb. 4.1) in die international gängige rev ish-Schreibweise. Denn auch bei höchstmöglicher Sorgfalt ist eine personenbezogene Auswertung nie völlig frei von subjektiven Eindrücken und Einschätzungen, so dass Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse einer bestimmten Variabilität unterworfen sind. Zugleich ist die Übertragung der Ergebnisse aber zwingend notwendig, um eine weitere vergleichende Auswertung zu ermöglichen.

Um dieses Problem zu minimieren, erfolgte die endgültige Bewertung der Ideogramme durch mehrere (zumindest 2) Mitarbeiter der Abteilung Pathologie. Ferner vermindert die hohe Anzahl der in unserer Studie verwendeten Tumoren den Einfluss der mitunter heterogenen Zytogenetik der unterschiedlichen Proben und der interindividuellen Auswertung.



**Abbildung 4.1:** Exemplarisches Histogramm typischer chromosomaler Veränderungen eines GBM nach Chromosomenbanden (Fall Nummer 159). DNS-Zugewinne werden in grün rechts vom Chromosom gezeigt, DNS-Verluste in rot links.

## 4.2 Wertigkeit klinischer Parameter als prognostischer Faktor

Die hohe Wertigkeit klinisch-pathologischer Parameter wie beispielsweise Patientenalter, Karnowsky Performance Status, histologisches Grading, Art der gewählten Therapie oder Resektionsstatus und Lokalisation des Tumors ist, wie für praktisch jeden malignen Tumor, bekannt und etabliert (Devaux et al., 1993; Shapiro et al., 1989; Jeremic et al., 1994). Auch die vorliegende Arbeit konnte dies bestätigen.

So zeigte sich auch im vorliegenden Kollektiv ein hochsignifikanter Einfluss des histologischen Gradings sowohl auf das Gesamtüberleben als auch auf die rezidivfreie Zeit.

Mit einem medianen Überleben von 71 Monaten für WHO-Grad-II-Tumoren sowie 34 und 13 Monaten nach Erstdiagnose für die Tumoren der WHO-Grade III und IV entsprachen unsere Ergebnisse denen der Literatur (Riemenschneider und Reifenberger, 2009; Stupp et al., 2005; Houillier et al., 2006). Die medianen Zeitabstände bis zum Auftreten eines Rezidivtumors betragen jeweils 55,5 (WHO-Grad II), 24 (WHO-Grad III) und 8 (WHO-Grad IV) Monate. Angaben zum Einfluss des WHO-Grades auf die rezidivfreie Zeit ließen sich indes in der Literatur nicht auffinden, so dass hier ein Vergleich nicht möglich ist.

Auch der negative Einfluss eines höheren Alters bei Erstdiagnose auf das Gesamtüberleben von Patienten mit einem GBM wurde bereits in mehreren Studien nachgewiesen und zeigte sich auch in unserem Kollektiv (Devaux et al., 1993; Shapiro et al., 1989). Bei den Tumoren niedrigerer WHO-Grade unseres Untersuchungsgutes zeigte sich dieser Zusammenhang jedoch nicht in signifikantem Maße. Interessanterweise hatte das Alter des Patienten jedoch in keinem der WHO-Grade einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Zeit bis zum Rezidiv. Dies könnte im Umkehrschluss ein Hinweis darauf sein, dass jüngere Patienten auch nach Auftreten eines Rezidivs überproportional längere Überlebenszeiten aufweisen als Ältere.

Ein bedeutender prognostischer Faktor, vor allem in GBM, ist das Ansprechen des Tumors auf Radio- und Chemotherapie. Dies zeigte sich auch in unserer Analyse in einer verbesserten Prognose der behandelten Tumoren. Mittel der Wahl für eine Chemotherapie der WHO-Grade III-IV ist heute Temozolomid, ein oral zu applizierendes Imidazotetrazinon der zweiten Generation. Eine Studie der European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) und des National Cancer Institute of Canada (NCIC) (Stupp et al., 2005) zeigte, dass die Kombination von Radiotherapie und Temozolomid die mediane Überlebenszeit von einem an einem GBM leidenden Patienten auf 14,6 Monate verlängern kann, im Vergleich zu 12,1 Monaten bei alleiniger Radiotherapie. Eine Kombination von Temozolomid und einer Radiotherapie mit Lomustin (CCNU) führte in einer anderen Studie sogar zu medianen Überlebenszeiten von 23.1 Monaten (Glas et al., 2009).

### 4.3 Chromosomale Imbalancen diffuser Astrozytome und ihre Bedeutung

Praktisch alle Neoplasien besitzen ein eigenes individuelles zytogenetisches Profil. Die Mutationen distinkter Tumoren können dabei verschiedenste Auswirkungen auf zellulärer Ebene haben und bedingen oft verschiedenste biologische oder morphologische Phänotypen. Dabei verursachen, nach allgemeiner Meinung, erst mehrere, in der Summe wirksame genetische Veränderungen die Entstehung einer Neoplasie. Und obwohl keine Veränderung in bestimmten Entitäten mit absoluter Sicherheit konstant anzutreffen ist, konnten Studien bereits typische wiederkehrende genetische Aberrationen in unterschiedlichen Tumorentitäten, so auch astrozytären Gliomen, aufzeigen.

Die durch die CGH aufgezeigten chromosomalen Veränderungen in unserem Kollektiv verteilten sich auf 592 Verluste und 481 Zugewinne. Damit fanden sich in der Gesamtzahl der untersuchten Gliome Verluste insgesamt häufiger. Die Inaktivierung von Tumorsuppressor- bzw. Reparaturgenen könnte demnach eine wichtigere Rolle in der Tumorgenese von astrozytären Gliomen spielen als die Vermehrung von Onkogenen.

Die durchschnittliche Anzahl der Aberrationen stieg mit dem Malignitätsgrad. Sie betrug in Grad II Astrozytomen 3,50, respektive 5,46 und 6,86 in WHO-Grad-III-Tumoren und GBM. Dies erscheint plausibel als Ausdruck der höheren Malignitätsgrade und stimmt mit den Ergebnissen von Ried et al. (1999) und Koschny et al. (2002) überein, die ebenfalls eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der genetischen Imbalancen und einem höheren Malignitätsgrad herstellen konnten.

#### 4.3.1 Häufige chromosomale Zugewinne und ihre prognostische Bedeutung

##### 4.3.1.1 Zugewinne auf Chromosom 7

Als am häufigsten von chromosomalen Zugewinnen bzw. Amplifikationen betroffen stellte sich in allen WHO-Graden das Chromosom 7 heraus. Ein Zugewinn eines kompletten Chromosom 7 zeigte sich dabei als hauptsächlicher Anteil der Veränderungen, partielle Zugewinne fanden sich seltener. Es zeigte sich ferner, dass der lange Arm bei Tumoren niedrigeren WHO-Grades deutlich öfter im Vergleich zum kurzen Arm einen Zugewinn zeigte, während dieser Unterschied bei Tumoren höheren WHO-Grades kaum zum Tragen

kam. Zugewinne auf dem siebten Chromosom werden auch in der Literatur einstimmig als häufigste Veränderung dieser Art angeführt (Koschny et al., 2002; Dahlback et al., 2009, Tab. 4.1 und Tab 4.2).

**Tabelle 4.1:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 7p mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	18%	n/a	0%	0%	n/a	33%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	18%	11%	0%
WHO III	37%	n/a	25%	0%	n/a	n/a	17%	n/a	n/a	27%	n/a	50%	30%	n/a
WHO IV	73%	63%	15%	0%	77%	71%	79%	50%	83%	74%	66%	84%	38%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

**Tabelle 4.2:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 7q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	35%	n/a	14%	0%	n/a	66%	n/a	n/a	n/a	20%	n/a	64%	28%	15%
WHO III	48%	n/a	17%	0%	n/a	n/a	26%	n/a	n/a	42%	n/a	40%	10%	n/a
WHO IV	75%	54%	38%	14%	80%	71%	79%	25%	77%	81%	68%	84%	38%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Ein negativer Einfluss von Zugewinnen des siebten Chromosoms auf das Gesamtüberleben konnte in der Literatur im Besonderen für diffuse und anaplastische Astrozytome aufgezeigt werden (Wessels et al., 2002; Kunwar et al., 2001). Daneben beschrieben Wiltshire et al. (2004) sowie Yakut et al. (2007) einen prognostischen Nachteil von 7q bzw. 7p-Zugewinnen unabhängig vom histologischen Grad. Unsere Untersuchungen konnten einen statistisch signifikanten negativen Einfluss auf das Gesamtüberleben von Zugewinnen auf 7p in Astrozytomen des WHO-Grades III sowie von Zugewinnen auf 7p und 7q in GBM sichern.



Dieselben Veränderungen hatten in der statistischen Analyse auch eine signifikant kürzere Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs zur Folge, was, nach dem Wissen des Autors, das erste Mal im Rahmen einer Studie gezeigt werden konnte.

Das Alter der Patienten mit Zugewinnen auf Chromosom 7 aller Malignitätsgrade war durchschnittlich etwas höher als das von solchen ohne Zugewinn (56,47 vs. 44,32 Jahre). Dies ist eine Beobachtung, die Kunwar et al. (2001) ebenfalls machen konnten.

Die Zugewinne genetischen Materials schlossen praktisch immer den Lokus 7p11-12 (Sitz des epidermalen growth factor-Rezeptor-Gens, EGFR) und, seltener, 7q21-q31 (Sitz von CDK6 und MET) ein. Während 7q21-q31 als besonders betroffener „Hotspot“ nur in Einzelfällen als in Gliomen amplifiziert beschrieben wurde (Koschny et al., 2002), ist das EGFR-Gen mit ca. 35 – 45 % der Fälle das am häufigsten amplifizierte Onkogen in primären GBM und wird als kritisch für die Entstehung dieser Tumorentität angesehen (Ohgaki et al., 2004; Houillier et al., 2006). In sekundären GBM dagegen liegt es mit einer Häufigkeit von nur ca. 8 % deutlich seltener vermehrt vor (Ohgaki et al., 2004). Wachstumsfaktorrezeptoren wie EGFR werden durch extrazelluläre Bindung ihres Liganden aktiviert, was zu einem Einbau von Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) in die Zellmembran führt. Versuche mit selektiven EGFR-Inhibitoren eine therapeutische Wirkung zu erzielen, waren bis jetzt nur von bescheidenem Erfolg (Verhoeff et al., 2010). Jedoch gibt es Hinweise, die auf ein stärkeres Ansprechen bei bestimmten Patientengruppen hinweisen, so z.B. bei Patienten mit einer Überexpression des EGF-Rezeptors mit Deletionsmutationsvariante III (EGFRvIII), der mit ca. 20 – 50 % der EGFR-Mutationen auch der häufigste Subtyp ist (Ohgaki und Kleihues, 2009; Sugawa et al., 1990). Jedoch konnte dieser Vorteil nur bei gleichzeitiger normaler Expressierung des PTEN-Gens (Phosphatase and Tensin homolog), einem Tumorsuppressorgen, dessen Genprodukt den Zelltod einleiten kann, gefunden werden (Mellinghoff et al., 2005).

Die Studienergebnisse über die Eignung des Amplifikationsstatus des EGFR-Gens als prognostischer Marker sind allerdings unschlüssig. So stellten beispielsweise Smith et al. (2001) bei positiver Amplifikation des Gens ein verlängertes Überleben fest, wenn die Patienten älter als 60 waren. Einen prognostischen Nachteil in univariater Analyse beschrieben Muracciole et al. (2002). Jüngere Studien konnten dagegen keinerlei statistisch signifikanten Einfluss auf das klinische Outcome feststellen (Rich et al., 2005; Quan et al.,

2005). In Anbetracht unserer und der Ergebnisse in der Literatur, die zumeist einen negativen prognostischen Einfluss von Zugewinnen auf Chromosom 7 zeigen, könnte dies auf andere, prognostisch wichtigere Zielgene auf Chromosom 7 hinweisen.

#### 4.3.1.2 Zugewinne auf Chromosom 8q

Als in WHO-Grad-II-Tumoren ähnlich häufig wie Chromosom 7 von Zugewinnen betroffen stellte sich der lange Arm von Chromosom 8 dar (in 6 von 34 Tumoren; 17,6 %). Das Vorkommen von Zugewinnen auf 8q in WHO-Grad-III-Astrozytomen und GBM war mit 16,7 % respektive 6,2 % der Fälle (9 von 54 bzw. 6 von 96 Tumoren) deutlich geringer. Auch andere Autoren beschreiben Zugewinne auf 8q als eine sehr häufige Veränderung in low-grade Astrozytomen (Schrock et al., 1996) (Tab. 4.3). In einer Untersuchung von Nishizaki et al. (1998) war 8q sogar der am häufigsten von Zugewinnen betroffene Chromosomenabschnitt, noch vor Chromosom 7.

**Tabelle 4.3:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 8q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	15%	n/a	57%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	20%	n/a	36%	22%	23%
WHO III	17%	n/a	8%	0%	n/a	n/a	14%	n/a	n/a	4%	n/a	20%	0%	n/a
WHO IV	6%	17%	8%	14%	10%	7%	8%	0%	27%	16%	7%	21%	0%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Auch deswegen lässt sich vermuten, dass Zugewinne auf dem langen Arm von Chromosom 8 eher frühe Ereignisse in der Pathogenese von Astrozytomen sind. So nahmen Nishizaki et al. (1998) an, dass Genamplifikationen (sekundärer) GBM auf 8q das Ergebnis von in Vorläuferläsionen erworbenen Mutationen sind, deren Zahl im Progress zunimmt. Weiterhin stellten sie fest, dass Tumoren mit dieser Veränderung tendenziell bei jüngeren Patienten und solchen mit besserer Prognose auftraten. Die Analyse unseres Untersuchungsgutes konnte indes nur in der Gruppe der AA eine signifikant verlängerte Zeit bis zu einem Rezidiv aufzeigen, wenn Chromosom 8q Zugewinne aufwies.

Die gemeinsam veränderte Region der beschriebenen Mutation lag auf 8q23-24, dort befindet sich unter anderem das MAPK15-Gen (Mitogen-aktivierte Proteinkinase 15). Dieses codiert für ein jüngeres Mitglied der RAS-mitogen-aktivierten Proteinkinasen-Familie (Maher et al., 2006). Ein weiteres, potentiell bedeutsames Gen auf 8q24.1 ist das Protoonkogen MYC (v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog), dessen Amplifikation bzw. vermehrte Expression in astrozytären Tumoren ebenfalls bereits in Studien beschrieben wurde (Koschny et al., 2002) und dessen Genprodukt c-myc die Expression von etwa 15 % aller menschlichen Gene beeinflusst.

#### 4.3.1.3 Zugewinne auf Chromosom 20

Chromosom 20 stellte sich mit Häufigkeiten von 17,7 % für Zugewinne auf 20p und 13,5 % für Zugewinne auf 20q als das am zweithäufigsten von diesen Veränderungen betroffene Chromosom in GBM heraus. Auch zeigten sich Zugewinne genetischen Materials mit 14,8 % (20p) bzw. 16,7 % (20q) der Fälle häufig in WHO-Grad-III-Astrozytomen. Damit bewegte sich der Anteil von Chromosom 20-Zugewinnen in unserer Studie in dem für diese Veränderung in der Literatur beschriebenen Bereich (Tab. 4.4 und Tab. 4.5).

**Tabelle 4.4:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 20p mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	6%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	18%	0%	8%
WHO III	13%	n/a	0%	0%	n/a	n/a	3%	n/a	n/a	8%	n/a	50%	0%	n/a
WHO IV	17%	21%	0%	0%	20%	21%	k.A.	5%	37%	39%	15%	32%	0%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

**Tabelle 4.5:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 20q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	6%	n/a	29%	0%	n/a	33%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	18%	17%	0%
WHO III	15%	n/a	17%	0%	n/a	n/a	11%	n/a	n/a	12%	n/a	30%	10%	n/a
WHO IV	13%	21%	31%	0%	23%	29%	22%	0%	40%	42%	17%	37%	13%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Ein statistisch signifikanter Einfluss von Zugewinnen auf 20p und/oder 20q auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zu einem Rezidiv konnte in keinem der WHO-Grade festgestellt werden. Dies widerspricht Berichten in der Literatur, die in Anwesenheit von Zugewinnen auf 20q ein verkürztes Überleben (Wiltshire et al., 2004) bzw. in einer Gruppe von seltenen Langzeitüberlebenden (> 3 Jahre) eine niedrigere Frequenz dieser Zugewinne im Gegensatz zum vermehrten Auftreten in typischen GBM (Burton et al., 2002) beschrieben.

Brunner et al. (2000) beschrieben in einer durch CGH untersuchten Serie von GBM einen Zugewinn auf Region 20p11-12, die potentiell bedeutsame Gene wie PCNA (proliferating cell nuclear antigen) und PYGB (human brain glycogen phosphorylase) enthält. Auch in unserem Untersuchungsgut umfassten die Hinzugewinne auf 20p immer diesen Locus. Ein weiterer mehrfach als amplifiziert in und charakteristisch für Astrozytome beschriebener Locus ist 20q13, der das Serin/Threonin-Kinase-Gen AURKA (Aurorakinase A, auch STK15-Gen) enthält (Klein et al., 2004) dessen Amplifikation bzw. Überexpression z.B. auch in Mammakarzinomen beschrieben wurde (Bolanos-Garcia, 2005). Da der Großteil der von uns erfassten Zugewinne den Zugewinn eines kompletten Chromosoms 20 darstellte, wiesen dementsprechend auch die meisten der Tumoren diese Veränderung auf.

Ferner kommen noch weitere potentielle Zielgene der Zugewinne auf Chromosom 20 in Betracht, so beispielsweise die hämatopoietische Zellkinase auf 20q11 und der Steroidrezeptor-Koaktivator AIB1 (Amplified in Breast Cancer-1) auf 20q12. Auf 20q13 liegen daneben das MYBL2-Gen (V-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like

2), welches für einen Transkriptionsfaktor kodiert und eine Rolle im Fortschreiten des Zellzyklus spielt und das CAS-Gen (cellular apoptosis susceptibility) (Knuutila et al., 1998).

#### 4.3.1.4 Zugewinne auf Chromosom 19

Zugewinne auf Chromosom 19 werden in der Literatur ebenfalls als relativ häufige chromosomale Aberrationen in Astrozytomen erwähnt (Tab. 4.6 und Tab. 4.7). Auch in unserem Kollektiv zeigten über 10 % der WHO-Grad-III-Tumoren und GBM Zugewinne auf 19p. Bemerkenswert ist, dass Zugewinne auf 19q in GBM mit ähnlicher Häufigkeit auftraten wie solche auf 19p, während 19q-Zugewinne in WHO-Grad-III-Astrozytomen nur in ungefähr 5 % der Fälle nachweisbar waren. Dies erklärt sich dadurch, dass Zugewinne an Chromosom 19 in GBM meist ein ganzes Chromosom umfassten, während in WHO-Grad-III-Tumoren bevorzugt der kurze Arm betroffen war. Eine Studie von Koschny et al. (2002) an 509 Gliomen unterschiedlicher Histologie und WHO-Grades beschrieb, dass Zugewinne auf Chromosom 19 zumeist das Ergebnis von Zugewinnen von ganzen Chromosomen wären. Unsere Studie zeigt, dass dies im Besonderen für GBM zutrifft. Man könnte demzufolge spekulieren, dass Zugewinne eines ganzen Chromosom 19 oder eines Lokus auf 19q für die Entstehung von GBM und weniger für die von Astrozytomen eines niedrigeren Malignitätsgrades eine Rolle spielen. Ein signifikanter prognostischer Einfluss von Zugewinnen an Chromosom 19 fand sich in unserer statistischen Analyse jedoch nicht.

**Tabelle 4.6:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 19p mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	6%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	20%	n/a	0%	0%	0%
WHO III	11%	n/a	0%	0%	n/a	n/a	11%	n/a	n/a	62%	n/a	20%	0%	n/a
WHO IV	14%	29%	0%	0%	47%	29%	53%	0%	20%	42%	37%	21%	0%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

**Tabelle 4.7:** Häufigkeit von Zugewinnen auf 19q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	3%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	0%	0%	0%
WHO III	6%	n/a	8%	0%	n/a	n/a	9%	n/a	n/a	38%	n/a	k.A.	0%	n/a
WHO IV	13%	29%	31%	0%	37%	36%	k.A.	0%	20%	39%	27%	26%	0%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Von Koschny et al. (2002) wurde unter anderem auch 19q13.2 als ein „Hotspot“ der Zugewinne auf Chromosom 19 beschrieben. Auf diesem Locus befindet sich das MARK4-Gen (MAP/mikrotubule affinity-regulating kinase 4), dessen Genprodukt eine Rolle im Fortschreiten des Zellzyklus spielt und dessen Amplifikation in Gliomen von Beghini et al. (2003) nachgewiesen werden konnte. Dass eine erhöhte MARK4-Expression mit dem Phänotyp undifferenzierter neuraler bzw. proliferierender glialer Vorläuferzellen vergesellschaftet ist, spricht für eine mögliche Bedeutsamkeit des Gens für die Tumorgenese und/oder den Tumorprogress.

### 4.3.2 Häufige chromosomale Verluste und ihre prognostische Bedeutung

#### 4.3.2.1 Verluste von Chromosom 10

Verluste genetischen Materials konnten insgesamt am häufigsten auf Chromosom 10p und 10q beobachtet werden. Zeigten WHO-Grad-II-Astrozytome die Veränderung mit jeweils 11,8 % noch verhältnismäßig selten, konnten in GBM Verluste von 10q in 82,3 % und von 10p in 72,9 % der Fälle nachgewiesen werden. Der Verlust betraf dabei in der Regel das gesamte Chromosom und war die häufigste chromosomale Aberration in Grad-IV Astrozytomen überhaupt. War nicht das gesamte Chromosom betroffen, fanden sich praktisch nie Verluste von 10p. Dies ist ein Merkmal, das auch von Fujisawa et al. (1999) beschrieben wurde und dafür spricht, dass 10q das für die Erkrankung signifikantere Gen beherbergt.

Auch in der Literatur werden Verluste von Chromosom 10 mit Häufigkeiten von 30-70 % in AA und 60-95 % in GBM als die häufigsten chromosomalen Veränderungen humaner maligner Gliome überhaupt beschrieben (Tada et al., 2001; Dahlback et al., 2009) (Tab. 4.8 und Tab. 4.9), was mit unseren Ergebnissen konsistent ist.

**Tabelle 4.8:** Häufigkeit von Verlusten von 10p mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	9%	n/a	0%	0%	n/a	33%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	18%	0%	0%
WHO III	28%	n/a	17%	0%	n/a	n/a	14%	n/a	n/a	23%	n/a	20%	10%	n/a
WHO IV	67%	62%	62%	0%	57%	57%	67%	45%	50%	84%	46%	68%	30%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

**Tabelle 4.9:** Häufigkeit von Verlusten von 10q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmer et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	9%	n/a	0%	0%	n/a	33%	n/a	n/a	n/a	0%	n/a	45%	0%	8%
WHO III	41%	n/a	33%	0%	n/a	n/a	29%	n/a	n/a	42%	n/a	50%	50%	n/a
WHO IV	74%	62%	62%	0%	80%	64%	82%	45%	57%	90%	68%	79%	53%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Mehrere Studien untersuchten bereits die Eignung von Verlusten von 10q als prognostischen Marker. So fanden Schmidt et al. (2002), Rasheed et al. (2002) sowie Wiltshire et al. (2004) eine signifikante Korrelation von Verlusten von 10q mit einem kürzeren Überleben in uni- und multivariater Analyse. Auch in unserer Studie zeigte sich ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben und eine verkürzte Zeit bis zu einem Rezidiv der Patienten mit WHO-Grad-III-Astrozytomen sowie GBM, wenn 10q chromosomale Verluste aufwies. Verluste von 10p waren in GBM dagegen nicht signifikant mit einem kürzeren Überleben (wohl aber ebenso mit einer verkürzten Zeit bis zum Rezidiv) vergesellschaftet. Dies unterstützt die Vermutung, dass das prognostisch bedeutende(re) Gen auf 10q liegt. Daneben ist anzumerken, dass Zugewinne auf 10p in AA mit einem verlängerten Gesamtüberleben und einer verlängerten Zeit bis zu einem Rezidiv verbunden waren. Ob diese Vermehrung ein möglicherweise bedeutsames Tumorsuppressorgen betrifft oder nur durch den Nichtverlust des potentiellen (Proto-)Onkogens hervorgerufen wird, kann hier jedoch nicht geklärt werden.

Eine der vor allem betroffenen Regionen war 10q23-24, auf dem das PTEN-Gen (10q23.3) liegt. Veränderungen dieses Gens sind mit einer Häufigkeit von 25 – 40 % in primären GBM häufig anzutreffen (Knobbe et al., 2002; Ohgaki et al., 2004). Sekundäre GBM und diffuse Astrozytome niedrigerer Malignität zeigen diese Veränderungen nur selten, je nach Studie im Bereich von nur 10 % der untersuchten Fälle (Tohma et al., 1998; Knobbe et al., 2002). Funktionsverluste von PTEN werden von mehreren Autoren übereinstimmend mit einem ungünstigen Einfluss auf die Prognose in Verbindung gebracht (Lin et al., 1998; Tada et al., 2001; Smith et al., 2001). Das PTEN-Gen ist ein Tumorsuppressorgen, dessen Genprodukt eine Protein- und Lipidphosphataseaktivität besitzt. Es dephosphoryliert die 3-OH-Position von



Phosphatidylinositol-(3,4,5)-Triphosphat (PIP3), einem Produkt von PI3K, und inhibiert so seine Wirkung. Diese besteht in einer Aktivierung von verschiedenen Zielmolekülen, die für Zellproliferation und Apoptoseresistenz verantwortlich sind (Huang et al., 2007).

Allerdings haben Studien gezeigt, dass nur ein Teil der von partiellen 10q-Verlusten betroffenen Gliome auch eine Beteiligung des PTEN-Lokus aufweisen und Gliome unterschiedlicher Malignitätsgrade mit Verlusten verschiedener Zielgene auf 10q assoziiert sind (Sano et al., 1999). Insbesondere wurden mit 10p14-15 und 10q25qter weitere, häufig von Verlusten betroffene Regionen beschrieben, was für das Vorhandensein von anderen wichtigen Tumorsuppressorgenen spricht (Ohgaki und Kleihues, 2007; Dahlback et al., 2009).

Beispielsweise konnte ein Zusammenhang zwischen einem Malignitätsanstieg von Grad III zu Grad IV-Tumoren und dem Verlust von 10q25qter gezeigt werden (Fujisawa et al., 1999). Mehrere potentiell bedeutsame Gene wie beispielsweise LGI1 (Leucine-rich, glioma inactivated 1) auf 10q24 (Chernova et al., 1998) und ABLIM1 (Actin binding LIM protein 1) auf 10q25.1 (Kim et al., 1997) wurden auf diesem Locus beschrieben. Eine Studie fand Veränderungen bzw. Verluste des DMBT1-Gens (deleted in malignant brain tumors 1) auf 10q25.3-26.1 in 70 - 90 % von Gliomen unterschiedlicher Malignität und Histologie (Lin et al., 1998). Die Berichte über den prognostischen Einfluss von Veränderungen des DMBT1-Lokus, dass für ein Glykoprotein kodiert, welches eine Rolle bei der Interaktion von Tumorzellen mit dem Immunsystem spielen soll, sind jedoch widersprüchlich. Tada et al. (2001) beschrieben eine signifikant ungünstigere Prognose anaplastischer Astrozytome bei Verlust der Heterozygotie dieses Locus, während Lin et al. (1998) sowie Terada et al. (2002) keinen solchen Einfluss feststellen konnten.

#### 4.3.2.2 Verluste von Chromosom 9p

Der Verlust genetischen Materials auf dem kurzen Arm von Chromosom 9 war eine weitere oft nachzuweisende Aberration in den von uns untersuchten Gliomen. Die Häufigkeit der Veränderung stieg dabei mit steigendem WHO-Grad an, nämlich für WHO-Grad I 14,7 %, WHO-Grad II 27,8 % sowie WHO-Grad IV 35,4 % der untersuchten Astrozytome. Dies ist in etwa konsistent mit den in der Literatur beschriebenen Zahlen, die einen 9p-Verlust in Gliomen als den häufigsten auf dem p-q-Level beschreiben (Koschny et al., 2002) (Tab. 4.10).

**Tabelle 4.10:** Häufigkeit von Verlusten auf 9p mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	15%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	27%	0%	15%
WHO III	22%	n/a	25%	0%	n/a	n/a	34%	n/a	n/a	31%	n/a	50%	30%	n/a
WHO IV	31%	46%	62%	0%	63%	29%	67%	10%	27%	55%	29%	47%	15%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Wiltshire et al. (2004) stellten bei Gliomen mit einem Verlust von 9p ein 1.8-fach erhöhtes Todesrisiko fest, was sich jedoch nach multivariater Berechnung mit Einbeziehung des Alters und Malignitätsgrades als nicht signifikant herausstellte. Die Kombination eines Verlustes auf 9p mit einem Verlust von Chromosom 10 und Zugewinn auf 7 erreichte in derselben Studie jedoch prognostische Signifikanz, auch nach Altersanpassung. Einen signifikanten negativen prognostischen Einfluss von 9p-Verlusten, der jedoch ebenfalls nicht in einer multivariaten Analyse standhielt, beschrieben auch Rasheed et al. (2002). Dies wird auch durch unsere Ergebnisse unterstützt, die in keinem der WHO-Grade ein Einfluss von Verlusten von 9p auf das Gesamtüberleben oder die Zeit bis zu einem Rezidiv aufzeigen konnten. Eine andere Studie konnte allerdings einen signifikanten Benefit einer alkylierenden Chemotherapie mit Temozolomid und damit verbundener verbesserter Prognose in Patienten mit Verlusten von 9p oder 10q feststellen (Wemmert et al., 2005).

Wenn nicht der gesamte Arm betroffen war, schlossen die Verluste praktisch immer die Region 9p21 ein, die beispielsweise den CDKN2A-Lokus enthält. Mutationen des CDKN2A und des benachbarten CDKN2B-Lokus (kodiert für p15<sup>INK4B</sup>) sind mit 52 % bzw. 47 % in primären GBM häufig (Cancer Genome Atlas Research Network, 2008). Nakamura et al. (2001 a) fanden Veränderungen von p16<sup>INKA</sup> in primären (35 %) und sekundären GBM (31 %) in ungefähr gleicher Häufigkeit. Dabei überwogen Mutationen durch homozygote Deletion in primären GBM während Promotormethylierungen häufiger in sekundären GBM beobachtet werden konnten. Indes konnten in Gliomen niedrigerer Malignität kaum Veränderungen beobachtet werden. Die physiologische Funktion von p16<sup>INK4A</sup> besteht in der Bindung an CDK4 und Inhibierung des CDK4/Cyclin D1-Komplexes. Dieser setzt durch

Phosphorylierung des Retinoblastomproteins RB1 Transkriptionsfaktoren der E2F-Familie frei und gibt dadurch den G1 > S-Checkpoint des Zellzyklus frei (Sherr und Roberts, 1999). Eine Studie zeigte Veränderungen von p14<sup>ARF</sup> in 50 % respektive 75 % der untersuchten primären sowie sekundären GBM. Die Mutationen verteilten sich gleichmäßig auf Deletionen und Promotormethylierungen, mit einem höheren Anteil von Methylierungen des p14<sup>ARF</sup>-Promotors in sekundären GBM. Daneben konnte gezeigt werden, dass eine Hypermethylierung von p14<sup>ARF</sup> mit einem höheren Risiko der Malignisierung von diffusen Astrozytomen zu höhergradigen Entitäten verbunden ist bzw. dass schon ein Drittel aller low-grade Astrozytome, die sich später zu sekundären GBM entwickelten, diese Veränderung aufweisen (Nakamura et al., 2001 a; Watanabe et al., 2007). Prognostisch scheinen p14<sup>ARF</sup>-Mutationen einen negativen Einfluss zu haben (Watanabe et al., 2003; Watanabe et al., 2007).

#### 4.3.2.3 Verluste von Chromosom 13q

Verluste von 13q waren in 19,8 % der GBM nachzuweisen. Mit 14,7 % bzw. 25,9 % der WHO-Grad-II-Tumoren und WHO-Grad-III-Tumoren ließ sich die Veränderung in den niedriger malignen Entitäten in vergleichbarer Häufigkeit beobachten. Damit lag das Vorkommen von Verlusten von Chromosom 13q in unserer Studie unter den in der Literatur für GBM beschriebenen Zahlen von 30 – 40 % (Tab. 4.3.2.3/1). Allerdings ist anzumerken, dass einige CGH-Studien (meist solche kleinerer Fallzahlen) mitunter auch gar keine Verluste von Chromosom 13q in GBM nachweisen konnten (Tab. 4.11).

**Tabelle 4.11:** Häufigkeit von Verlusten von 13q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arsliant et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arsliant et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	6%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	30%	n/a	18%	0%	8%
WHO III	24%	n/a	25%	0%	n/a	n/a	17%	n/a	n/a	27%	n/a	40%	20%	n/a
WHO IV	16%	29%	31%	0%	57%	36%	40%	5%	40%	32%	37%	37%	15%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

Die Verluste von 13q im vorliegenden Kollektiv betrafen praktisch immer den gesamten langen Arm oder zumindest große Teile davon, was beispielsweise auch von Dahlback et al. (2009) beschrieben wurde. Koschny et al. (2002) erwähnten 13q21.1 als einen besonders stark betroffenen Lokus in Astrozytomen, wobei nichtsdestotrotz ebenfalls bemerkt wurde, dass die Verluste meist große Abschnitte von 13q betrafen.

Die statistische Analyse zeigte jedoch in keinem der WHO-Malignitätsgrade einen signifikanten Einfluss von Verlusten von 13q auf das Gesamtüberleben oder die Zeit bis zu einem Rezidiv. Die Berichte über die Eignung von Verlusten des langen Arms von Chromosom 13 als prognostischer oder prädiktiver Marker sind eher rar gesät. Huhn et al. (1999) untersuchten mittels CGH den Einfluss genetischer Aberrationen auf die Radiosensitivität von GBM. Sie beschrieben eine Korrelation von gleichzeitigem 9p23-24 und 13q14-Verlust und einer erhöhten Strahlenresistenz. Interessanterweise stellten Kunwar et al. (2001) einen höheren Anteil an Verlusten von 9p und 13q in rekurrenten anaplastischen Astrozytomen fest.

Ein mögliches Zielgen der Verluste ist das Retinoblastomgen (RB-Gen) auf 13q14.1-q14.2. Die Inaktivierung des RB1-Gens durch Promotomethylierung und Deletion ist mit einer Häufigkeit von 14 % bzw. 11 % der Fälle ein relativ seltenes Ereignis in primären GBM (Nakamura et al., 2001 b; Cancer Genome Atlas Research Network, 2008). Jedoch zeigen 43 % der sekundären GBM eine inaktivierende Veränderung des Gens. Diese Veränderung ist in diffusen und anaplastischen Astrozytomen noch nicht zu finden, was darauf hinweist, dass es ein eher spätes Ereignis ist (Nakamura et al., 2001 b).

#### 4.3.2.4 Verluste von Chromosom 14q

Mit einer Häufigkeit von 26 % der GBM standen Verluste von 14q an vierter Stelle der Verluste genetischen Materials, was mit den Zahlen in der Literatur übereinstimmt (Tab. 4.12). Mit einer deutlich geringeren Häufigkeit von 8,8 % respektive 13 % fand sich die Veränderungen in WHO-Grad-II-Tumoren und WHO-Grad-III-Tumoren.

**Tabelle 4.12:** Häufigkeit von Verlusten von 14q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	9%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	0%	n/a	36%	0%	0%
WHO III	11%	n/a	0%	0%	n/a	n/a	14%	n/a	n/a	19%	n/a	40%	0%	n/a
WHO IV	21%	0%	0%	14%	23%	29%	26%	0%	7%	26%	20%	21%	0%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

In Untersuchungen von Dichamp et al. (2004) sowie Felsberg et al. (2006) wurden die in der überwiegenden Zahl der untersuchten Gliome betroffenen Regionen auf 14q22-24 und 14q31-32 begrenzt. Da in unserem Kollektiv in der Regel der gesamte Chromosomenarm oder zumindest große Teile von den Verlusten betroffen waren, waren diese Regionen darin natürlich eingeschlossen. Weitere Verluste von genetischem Material auf den Loci von potentiell bedeutsamen Zielgenen wie FOXA1 (Forkhead box protein A1), dessen prognostischer Einfluss in Mammakarzinomen belegt wurde (Albergaria et al. 2009) und MBIP (MAP3K12 binding inhibitory protein 1) auf der Chromosomenregion 14q12 sowie FOXG1 (Forkhead box protein G1) auf 14q13 in einer Reihe von Gliomen wurden von Saigusa et al. (2005) mittels einer array-CGH detektiert.

#### 4.3.2.5 Verluste von Chromosom 4q

Verluste von 4q waren mit 14,8 % respektive 4,2 % in AA und GBM ebenfalls verhältnismäßig seltener anzutreffen als in low-grade Astrozytomen mit 26,5 % der Fälle. Dies spricht dafür, dass derartige chromosomale Veränderungen für den Progress zu höher malignen Astrozytomen keine oder zumindest nur eine untergeordnete Rolle spielen. Sie umfassten dabei sowohl in low-grade als auch high grade Astrozytomen zumeist große Teile des Chromosomenarms.

Verluste von 4q in astrozytären Tumoren wurden bisher relativ selten beschrieben (Tab. 4.13). Roerig et al. (2005) fanden sie in einem hohen Anteil der untersuchten Astrozytome des WHO-Grades II mittels Matrix-basierter CGH. Saigusa et al. (2005) wiesen sie in einem

Kollektiv von Gliomen verschiedener Malignitätsgrade mittels Array-basierter CGH nach. Die Verluste umfassten auch hier über den gesamten Arm verteilte Loci wie zum Beispiel das FGF5-Gen (fibroblast growth factor 5) auf 4q21, das für einen Wachstumsfaktor kodiert, der unter anderem eine angiogene Wirkung besitzen soll oder das NF- $\kappa$ B-Gen (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) auf 4q24, welches eine wichtige Rolle in der Regulation der Immunantwort, der Proliferation von Zellen und ihrer Apoptose spielt.

**Tabelle 4.13:** Häufigkeit von Verlusten von 4q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	21%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	10%	n/a	45%	0%	15%
WHO III	13%	n/a	0%	0%	n/a	n/a	20%	n/a	n/a	15%	n/a	k.A.	30%	n/a
WHO IV	3%	0%	0%	0%	17%	0%	11%	0%	17%	23%	0%	k.A.	5%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

#### 4.3.2.6 Kombinierte Verluste von Chromosom 1p/19q

Der Verlust genetischen Materials von Chromosom 1p und 19q ist eine häufig anzutreffende Aberration in Oligodendrogliomen der WHO-Grade II und III und dort mit einem verbesserten Ansprechen auf Radio- und Chemotherapie und längerem Überleben korreliert (Kros et al., 2007). Der molekulare Mechanismus, der für die verbesserte Prognose zuständig ist, konnte noch nicht ermittelt werden. Es gibt jedoch Hinweise, die einen Zusammenhang mit einer erhöhten MGMT-Promotormethylierung (O<sup>6</sup>-Methylguanin-DNA-Methyltransferase) herstellen (Brandes et al., 2006). Allerdings muss zwischen der „echten“ 1p/19q-Kodeletion und einem partiellen Verlust von 1p36 unterschieden werden, der typischerweise mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet ist (Idbaih et al., 2005; Ichimura et al., 2008). Diese Differenzierung ist wiederum eine Stärke der CGH, da auf einzelne Genomabschnitte begrenzte Methoden wie z.B. die Fluoreszenz in-situ Hybridisierung teilweise einen einzelnen Locus als Marker für einen kompletten Verlust benutzen und so zu Fehldiagnosen führen können (Idbaih et al., 2008). Auch in unserer Studie und einer Studie von Dahlback et al. (2009) waren Verluste auf 1p meist inkomplett, wenn sie getrennt von 19q-Verlusten auftraten.

Ebenso konnten in low-grade Astrozytomen und Oligoastrozytomen, allerdings wesentlich seltener, 1p/19q-Kodeletionen gefunden werden (Tab 4.14), wobei hier ein prognostischer oder prädiktiver Nutzen noch nicht erwiesen werden konnte (Hirose et al., 2003; Arslantas et al., 2007). Mehrere Autoren beschrieben derweil einen prognostischen Vorteil von 1p/19q-Verlusten in GBM. Dies konnte durch die geringen Fallzahlen dieser Studien jedoch meist nicht abschließend verifiziert werden (Schmidt et al., 2002; Hill et al., 2003).

**Tabelle 4.14:** Häufigkeit von kombinierten Verlusten von 1p/19q mittels CGH in Astrozytomen der WHO-Grade II-IV (Auswertung von 14 Studien)\*

	Eigene Daten	Schlegel et al. 1996	Nishizaki et al. 1998	Maruno et al. 1999	Huhn et al. 1999	Brunner et al. 2000	Kunwar et al. 2001	Arslantas et al. 2004	Inda et al. 2003	Wiltshire et al. 2004	Wemmert et al. 2005	Roerig et al. 2005	Arslantas et al. 2007	Dahlback et al. 2011
WHO II	15%	n/a	0%	0%	n/a	0%	n/a	n/a	n/a	k.A.	n/a	k.A.	11%	0%
WHO III	7%	n/a	0%	0%	n/a	n/a	k.A.	n/a	n/a	k.A.	n/a	k.A.	n/a	20%
WHO IV	0%	0%	0%	14%	3%	0%	k.A.	20%	0%	0%	12%	k.A.	8%	n/a

\* k.A.: Die Studie schloss die Aberration zwar ein, es fand sich jedoch keine Angabe über ihre jeweilige Häufigkeit.

\* n/a: Die Studie schloss die Aberration nicht ein.

In unserem Untersuchungsgut konnten kombinierte Verluste von 1p und 19q in 5 WHO-Grad-II-Astrozytomen (14,7 %) und 4 AA (7,4 %) nachgewiesen werden. Interessanterweise zählte nur einer der betroffenen WHO-Grad-II-Tumoren und keiner der betroffenen WHO-Grad-III-Tumoren zu der Gruppe der Oligoastrozytome. Das Vorkommen dieser Veränderung in nicht oligodendroglialen Tumoren legt die Vermutung nahe, dass das Vorkommen von 1p und/oder 19q Verlusten auch in der Pathogenese astrozytärer Tumoren eine Rolle spielen könnte. GBM zeigten nie einen kombinierten 1p/19q-Verlust.

Tumoren mit der entsprechenden Aberration wiesen nur wenige andere Imbalancen auf und nie einen gleichzeitigen Zugewinn auf Chromosom 7, was auch schon von Hirose et al. (2003) beschrieben wurde.

Die beteiligten Tumorsuppressorgene auf 19q sind noch weitestgehend unbekannt. Als ein häufig von Funktionsverlusten betroffenes Gen auf 19q wurde das EMP3-Gen (Epithelial membrane protein 3) auf 19q13.3 identifiziert. Allerdings scheint in diffusen Astrozytomen (außer in primären GBM, in denen EMP3 oft sogar überexprimiert ist) eher eine Hypermethylierung des Promotors und nicht ein Verlust genetischen Materials die Ursache des Funktionsverlustes dieses Gens zu sein (Kunitz et al., 2007).



## 4.4 Definition unterschiedlicher Wege der zytogenetischen Evolution von Gliomen durch onkogenetische Baummodelle

Eines der Ziele dieser Arbeit stellte die Charakterisierung der zytogenetischen Entwicklung und die Identifikation von dadurch definierten Gruppen astrozytärer Tumoren dar. Obwohl Zugewinne auf Chromosom 7 und Verluste von Chromosom 10 die anerkannten charakteristischen chromosomalen Veränderungen astrozytärer Gliome darstellen, wurden in vergangenen Studien und in dieser weitere Aberrationen nachgewiesen, deren Verhältnisse und Abhängigkeiten untereinander bisher nur wenig untersucht wurden. Die vorliegenden Ergebnisse könnten so einen relevanten Beitrag zum besseren Verständnis der unterschiedlichen Biologie dieser Tumorentität liefern und eine Rolle in ihrer zukünftigen prognostischen Beurteilung spielen.

Dazu wurden aus CGH-Ergebnissen von insgesamt 184 astrozytären Gliomen der WHO-Malignitätsgrade II-IV onkogenetische Baummodelle erstellt. Die Auswertung aller Tumoren zeigte fünf zytogenetische Cluster. Einer gekennzeichnet durch einen Verlust von 6q, ein weiterer initialisiert durch den Verlust von 13q, der Dritte durch den Verlust von 9p. Die vierte Gruppe wurde charakterisiert durch Zugewinne auf Chromosom 7 und Verluste von Chromosom 10, während die fünfte Gruppe Zugewinne auf 8q sowie Verluste von 4q aufwies.

### 4.4.1 -6q-Cluster

Der -6q-Cluster fand sich speziell innerhalb der Astrozytome des WHO-Grades II und III, wobei die letztere Gruppe zusätzlich Zugewinne auf 17q und Verluste von 9p aufwies. Verluste von 6q korrelierten in WHO-Grad-II-Astrozytomen mit einer verlängerten rezidivfreien Zeit, zeigten jedoch keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben. Eine Beschreibung von Verlusten von 6q als prognostischer Marker oder als charakteristische Veränderungen einer bestimmten zytogenetischen Gruppe von astrozytären Tumoren ist dem Autor nicht bekannt und stellt somit eine Neuheit dar.

#### 4.4.2 -13q/-22q/-14q/-15q-Cluster

Der zytogenetische Cluster, der diese Aberrationen einbezog, stellte sich nur in der vom WHO-Grad unabhängigen Berechnung dar. In der Betrachtung der einzelnen WHO-Grade verteilten sich die Veränderungen eher in verschiedenen Gruppen. Eine mögliche Ursache dafür könnte das insgesamt seltenere Auftreten der einzelnen Aberrationen (im Vergleich z.B. zu Verlusten von Chromosom 10) sein, was eine höhere Streuung der Werte verursachen könnte. Auch zeigte sich eine erhöhte Häufigkeit von Verlusten von 14q und 15q in höher malignen Tumoren, was dafür spricht, dass diese Veränderungen erst während eines zytogenetischen Progresses des Tumors auftreten. Demzufolge kann ein niedrig maligner Tumor noch nicht durch eine derartige Veränderung charakterisiert werden. Verluste vom langen Arm von Chromosom 13 waren indes in allen WHO-Graden in vergleichbarer Häufigkeit nachzuweisen. Denkbar wäre hier, dass diese Veränderung eine bzw. die initiale Veränderung für die Entwicklung, aber nicht für den Progress einer zytogenetisch definierten Tumorgruppe darstellt.

Berichte, die die beschriebenen Aberrationen zur Charakterisierung verschiedener astrozytärer Tumorgruppen heranziehen, gibt es kaum. Kunwar et al. (2001) beschrieben beispielsweise eine Tendenz zum vermehrten Auftreten von 14q-Verlusten in AA in jüngeren Patienten, machten aber keine Aussage zu einem prognostischen Wert der Veränderung. Unsere Studie zeigte dagegen einen signifikanten negativen Einfluss dieser Aberration sowohl auf die rezidivfreie Zeit als auch auf die Gesamtüberlebenszeit in GBM. Die in der CGH festgestellten Verluste auf 15q wurden beispielsweise auch für gastrointestinale Stromatumoren (GIST) beschrieben, in denen sie charakteristisch für prognostisch schlechte GIST des Dünndarms sind (Veiga et al., 2010). Berichte über Verluste auf 15q in astrozytären Tumoren finden sich generell jedoch relativ selten. Nobusawa et al. (2010) beschrieben Verluste auf dem Locus 15q11.2 in einer Serie von GBM. Auch hier sind dem Autor keine Arbeiten über die prognostische Eignung von 15q-Verlusten bekannt, wobei auch die vorliegende Studie keinen solchen Einfluss aufzeigen konnte. Dies trifft im Übrigen auch für Verluste von 13q zu.

#### 4.4.3 -9p/+20/+19p-Cluster

Die Einordnung von Tumoren mit Verlusten von Chromosom 9p in eine eigenständige Gruppe wird ebenfalls durch die Ergebnisse anderer Autoren gestützt. So beschrieben Koschny et al. (2002), dass 9p-Verluste nur sehr selten zusammen mit Zugewinnen auf Chromosom 7 und Verlusten von Chromosom 10 auftreten, wohingegen die letzteren Veränderungen sehr häufig zusammen anzutreffen sind. Dies lässt unterschiedliche Angriffspunkte der Veränderungen in der Pathogenese von Astrozytomen vermuten. Tatsächlich greifen die Genprodukte des häufig veränderten CDKN2A-Genlokus auf 9p21 (kodiert für p16<sup>INK4A</sup> und p14<sup>ARF</sup>) sowohl in den RB1- als auch den p53-Signalweg ein. Diese Signalwege sind mit 80 bzw. 90 % der GBM extrem häufig von Mutationen betroffen.

#### 4.4.4 +7/-10-Cluster

Mehrere Autoren beschrieben bereits das häufige, beinahe immer gleichzeitige Auftreten von Verlusten genetischen Materials auf Chromosom 10 und Zugewinnen auf 7p11-13 (Kunwar et al., 2001; Arslantas et al., 2007; Dahlback et al., 2009), was unsere Einordnung in einen onkogenetischen Cluster unterstützt. Obwohl das ausschließliche simultane Auftreten dieser Veränderungen in unserer Studie nicht immer gegeben war, zeigte sich die Koinzidenz doch als sehr hoch (beispielsweise zeigten 67 der 72 von Zugewinnen auf 7p betroffenen GBM auch Verluste genetischen Materials von Chromosom 10). Yadav et al. (2009) veröffentlichten eine Arbeit, die den Verlust des ANXA7-Gens (Annexin A7) auf 10q21.1-q21.2 als einen wichtigen Bestandteil dieser Interaktion identifizierte. Es kodiert für ein Protein, dessen Verlust das EGFR-Protein stabilisiert und für eine Verstärkung der Signalwirkung führt. Auch konnte die Studie die Relevanz eines Verlustes von ANXA7 in Gliomen als unabhängigen prognostischen Marker darstellen.

Eine Einteilung von Astrozytomen nach ihrem Genexpressionsmuster wurde von Phillips et al. (2006) vorgenommen. Dabei wurden drei Gruppen beschrieben: Ein proliferativer Subtyp, ein mesenchymaler Subtyp und ein proneuraler Subtyp. Zwei dieser Typen, nämlich der proliferative und der mesenchymale, wiesen typischerweise Zugewinne auf Chromosom 7 und Verluste von Chromosom 10 auf. Diese waren, im Vergleich mit der dritten Gruppe, die diese Veränderungen nicht aufwies, mit einer vergleichsweise schlechten Prognose vergesellschaftet. Von Lee et al. (2008) wurde diese Einteilung bestätigt und um eine vierte Gruppe, den so genannten proliferativ-mesenchymalen Typ, erweitert. Eine Einteilung in sogar sieben Untergruppen mit unterschiedlichem, von ihrem jeweiligen Genexpressionsmuster abhängigen, klinischen Verhalten wurde von Gravendeel et al. (2009) vorgestellt. Veränderungen von Chromosom 10 und 7 mit dem pathogenetisch mutmaßlich bedeutsamen PTEN- respektive EGFR-Gen beeinflussen außerdem den mit 90 % ebenfalls sehr häufig beeinträchtigten RTK/RAS/PI3K-Signalweg (Cancer Genome Atlas Research Network, 2008).

#### 4.4.5 +8q/-4q-Cluster

Zugewinne auf dem langen Arm von Chromosom 8 sind eher häufige Befunde in Astrozytomen niedrigerer Malignitätsgrade und so ließen sich Cluster mit dieser Aberration auch nur in Tumoren der WHO-Malignitätsgrade II und III nachweisen, während dies in GBM nicht gelang. Nishizaki et al. (1998) sowie Arslantas et al. (2007) bemerkten, dass in ihrem Untersuchungsgut Zugewinne von 8q nie zusammen mit solchen auf 7p vorkamen. Auch die von uns untersuchten Tumoren zeigten in keinem der Fälle ein simultanes Auftreten der Veränderungen, was den Vorschlag von Arslantas et al. (2007), diese Entitäten verschiedenen Gruppen zuzuordnen, unterstützt.

## 4.5 Zukünftige Entwicklungen

Die in dieser Studie vorgestellten Daten stellen umfassende Ergänzungen und neue Erkenntnisse über die Zytogenetik primärer astrozytärer Gliome dar. Die hohe Anzahl der von uns untersuchten Tumoren bietet dabei eine solide statistische Basis und erlaubt genauere Aussagen.

Insbesondere bieten die onkogenetischen Baummodelle erstmals Einblicke in die zytogenetische Evolution astrozytärer Gliome und ermöglichen die Definition unterschiedlicher Tumorcluster. Denn obwohl dies die erste derartige Untersuchung darstellt, ließen sich bereits distinkte Wege der Tumorprogression herausstellen, wobei der häufigste Typ die für astrozytäre Tumoren kennzeichnenden Zugewinne von Chromosom 7 sowie Verluste von Chromosom 10 aufwies. Auch im Hinblick auf das teilweise unterschiedliche klinische Verhalten astrozytärer Gliome der WHO-Grade II-IV könnten mit Hilfe der zytogenetischen Charakterisierung in Zukunft bereits bei Diagnosestellung fundierte Aussagen zur Prognose der Patienten gemacht werden. An dieser Stelle könnten weitere Studien die hier definierten Tumorgruppen zukünftig genauer untersuchen und auf ihre klinische Relevanz hin prüfen. Durch den Einsatz von neuen, eine höhere Auslösung aufweisenden Verfahren wie der Matrix- bzw. Array-basierten CGH, bei der die vergleichende genomische Hybridisierung gegen ein Raster von immobilisierten DNS-Fragmenten durchgeführt wird, ließe sich die Genauigkeit der Definition von zytogenetischen Gruppen weiter verbessern.

## 5 Zusammenfassung

Der Begriff Gliom bezeichnet alle von der Neuroglia ausgehenden, primären Tumoren des Zentralen Nervensystems (ZNS). Diese werden unterteilt in Astrozytome, Oligodendrogliome, Mischgliome (Oligoastrozytome), Ependymome und in Tumoren des Plexus choroideus. Gliome stellen die häufigsten primären Tumoren des ZNS dar. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) teilt die histogenetisch verschiedenen Hirntumoren in vier histologische Tumorgrade ein, wobei ein niedrigerer Grad eine bessere Prognose impliziert.

Die häufigsten Gliome astrozytärer Herkunft sind: Das pilozytische Astrozytom (WHO-Grad I), das diffuse Astrozytom (WHO-Grad II), das anaplastische Astrozytom (AA, WHO-Grad III) und das Glioblastoma multiforme (GBM, WHO-Grad IV). Molekularzytogenetische Untersuchungen konnten verschiedene rekurrente Veränderungen auf Chromosomenebene nachweisen, von denen ein Zugewinn genetischen Materials auf Chromosom 7 sowie Verluste genetischen Materials im Bereich von Chromosom 10 die häufigsten darstellen.

Die vergleichende genomische Hybridisierung (comparative genomic hybridisation = CGH), deren Einsatz erstmals 1992 von Kallioniemi A et al. beschrieben wurde, ermöglicht eine umfassende Analyse von unbalancierten Chromosomenaberrationen eines Genoms in einer einzigen Untersuchung.

In dieser Dissertation wurden insgesamt 184 primäre astrozytäre Gliome verschiedener WHO-Malignitätsgrade mittels CGH untersucht und die Ergebnisse mit dem klinischen Verlauf korreliert. Die Analyse der Zeit zwischen Erstdiagnose und Diagnose eines Rezidivs zeigte ein durchschnittliches Intervall von 54,7 Monaten (WHO-Grad II), 36,1 Monaten (WHO-Grad III) und 13,4 Monaten (WHO-Grad IV). Neben klinischen Parametern wie beispielsweise dem histologischen Grading scheint dieses Intervall durch mehrere, je nach Grading teils unterschiedliche, Chromosomenregionen beeinflusst zu sein. Dabei zeigte das Vorliegen von typischen gliomeigenen Veränderungen wie Zugewinnen auf Chromosom 7 und Verlusten von Chromosom 10 besonders in Tumoren höheren WHO-Grades einen negativen prognostischen Einfluss, während beispielsweise Verluste von 19q oder Zugewinne auf 10p positive prognostische Relevanz aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch für den Einfluss auf das Gesamtüberleben.

Die häufigsten Aberrationen insgesamt stellten chromosomale Zugewinne auf Chromosom 7 sowie Verluste von Chromosom 10 dar. Dabei waren die besagten Aberrationen umso häufiger nachzuweisen, je höher der Malignitätsgrad des Tumors war. Es zeigte sich ferner, dass bestimmte Veränderungen, wie beispielsweise Zugewinne auf Chromosom 8, bei höherem Malignitätsgrad seltener nachzuweisen waren, während andere, wie zum Beispiel Verluste vom kurzen Arm des neunten Chromosoms, zunahmen. Weitere häufig (in mehr als 10 % der Fälle) nachzuweisende Zugewinne betrafen Chromosom 19 und 20 (in WHO-Grad-III-Tumoren und WHO-Grad-IV-Tumoren) sowie 10p, 17q (in WHO-Grad-III-Tumoren) und ferner 12q (in GBM). Wiederkehrende Verluste, neben denen von Chromosom 10, zeigten sich in allen WHO-Graden auf Chromosom 9p und 13q. In GBM fanden sich zusätzlich Verluste von Chromosom 14q, während Gliome der WHO-Grade II und III Verluste von Chromosom 4q aufwiesen. Niedrig maligne Astrozytome zeigten daneben Verluste von Chromosom 1p, 6q und 19q.

Die Analyse der Daten zeigte zudem mehrere chromosomale Aberrationen, die einen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben hatten. So waren Verluste von Chromosom 10q und Zugewinne auf 7p sowohl in astrozytären Gliomen des WHO-Grades III als auch des WHO-Grades IV mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet. In GBM zeigten zusätzlich Zugewinne auf 7q sowie Verluste von 14q, in AA zusätzlich Verluste von 10p ein verringertes Gesamtüberleben. WHO-Grad-III-Tumoren mit Verlusten von 1p oder mit Zugewinnen von 10p wiesen dagegen eine verbesserte Prognose auf. In Gliomen des WHO-Grades II zeigten dagegen nur Verluste von 3p ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben.

Auch die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivtumors wurde durch verschiedene Chromosomenaberrationen beeinflusst. Verluste von Chromosom 6p und 6q hatten lediglich in WHO-Grad-II-Astrozytomen einen positiven prognostischen Einfluss, während sich Verluste von 19q auch in AA derartig auswirkten. Ferner wiesen Verluste von Chromosom 1p und Zugewinne auf 8q sowie 10p in Gliomen des WHO-Grades III ein verlängertes rezidivfreies Intervall auf. Als prognostisch negativ zeigte sich jedoch der Einfluss eines Zugewinnes auf 7p und eines Verlustes von 10p sowohl in AA als auch in GBM. Eine Verkürzung der rezidivfreien Zeit in WHO-Grad-IV-Gliomen zeigten außerdem Verluste von 7q, 10q und 14q.

Ferner wurden onkogenetische Baummodelle für Gliome jeder Malignitätsgruppe erstellt, um verschiedene genetische Wege der Tumorgenese darzustellen. Dabei konnten fünf zytogenetische Cluster aufgezeigt werden. Ein Cluster war gekennzeichnet durch einen Verlust von 6q, ein weiterer wurde initialisiert durch den Verlust von 13q, der dritte durch den Verlust von 9p. Der vierte Cluster wurde charakterisiert durch Zugewinne auf Chromosom 7 und Verluste von Chromosom 10, während der fünfte Cluster Zugewinne auf 8q sowie Verluste von 4q aufwies.

Die beschriebenen Ergebnisse deuten nicht nur auf eine prognostische Relevanz der beschriebenen rekurrenten chromosomalen Aberrationen, sondern auch auf die Zugehörigkeit der Veränderungen zu distinkten zytogenetischen Tumorentitäten, welche das weitere diagnostische und therapeutische Vorgehen bei Gliomen astrozytärer Herkunft in Zukunft beeinflussen könnten.



## 6 Literaturverzeichnis

Albergaria A, Paredes J, Sousa B, Milanezi F, Carneiro V, Bastos J, Costa S, Vieira D, Lopes N, Lam EW, Lunet Nuno, Schmitt F (2009): Expression of FOXA1 and GATA-3 in breast cancer: the prognostic significance in hormone receptor-negative tumours. *Breast Cancer Res* 11, R40

Arslantas A, Artan S, Oner U, Durmaz R, Cosan E, Atasoy MA, Basaran N, Tel E (2004): The importance of genomic copy number changes in the prognosis of glioblastoma multiforme. *Neurosurg Rev* 27, 58-64

Arslantas A, Artan S, Öner Ü, Müslümanoğlu MH, Özdemir M, Durmaz R, Arslantas D, Vural M, Cosan E, Atasoy MA (2007): Genomic Alterations in Low-Grade, Anaplastic Astrocytomas and Glioblastomas. *Cancer Res* 66, 11502-13

Baudis M: Progenetix – cytogenetic abnormalities in human cancer. 2000. Verfügbar unter: [www.progenetix.net](http://www.progenetix.net)

Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V, Burek C, Ott G, Puig X, Yang L (2005): Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* 106, 3183-3190

Beghini A, Magnani I, Roversi G, Piepoli T, Di Terlizzi S, Moroni RF, Pollo B, Conti AM, Cowell JK, Finocchiaro G (2003): The neural progenitor-restricted isoform of the MARK4 gene in 19q13.2 is upregulated in human gliomas and overexpressed in a subset of glioblastoma cell lines. *Oncogene* 22, 2581-2591

Ben-Ezra J, Johnson DA, Ross J, Cook N, Wu A (1991): Effect of fixation on the amplification of nucleic acids from paraffine-embedded material by the polymerase chain reaction. *J Histochem Cytochem* 39, 351-354

Bolanos-Garcia VM (2005): Aurora kinases. *Int J Biochem Cell Biol* 37, 1572-1577

- Brandes AA, Tosoni A, Cavallo G, Reni M, Franceschi E, Bonaldi L, Bertorelle R, Gardiman M, Ghimenton C, Iuzzolino P (2006): Correlations between O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation status, 1p and 19q deletions, and response to temozolomide in anaplastic and recurrent oligodendroglioma: a prospective GICNO study. *J Clin Oncol* 24, 4746-4753
- Brigati DJ, Myerson D, Leary JJ, Spalholz B, Travis SZ, Fong CK, Hsiung GD, Ward DC (1983): Detection of viral genomes in cultured cells and paraffin-embedded tissue sections using biotin-labeled hybridization probes. *Virology* 126, 32-50
- Brunner C, Jung V, Henn W, Zang KD, Urbschat S (2000): Comparative genomic hybridization reveals recurrent enhancements on chromosome 20 and in one case combined amplification sites on 15q24q26 and 20p11p12 in glioblastomas. *Cancer Genet Cytogenet* 121, 124-127
- Burton EC, Lamborn KR, Feuerstein BG, Prados M, Scott J, Forsyth P, Passe S, Jenkins RB, Aldape KD (2002): Genetic aberrations defined by comparative genomic hybridization distinguish long-term from typical survivors of glioblastoma. *Cancer Res* 62, 6205-6210
- Cancer Genome Atlas Research Network (2008): Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455, 1061-1068
- Chernova OB, Somerville RP, Cowell JK (1998): A novel gene, LGI1, from 10q24 is rearranged and downregulated in malignant brain tumors. *Oncogene* 17, 2873-2881
- Collins VP (2004): Brain tumours: classification and genes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75, Suppl 2: ii2-11
- Dahlback HS, Brandal P, Meling TR, Gorunova L, Scheie D, Heim S (2009): Genomic Aberrations in 80 Cases of Primary Glioblastoma Multiforme: Pathogenetic Heterogeneity and Putative Cytogenetic Pathways. *Genes Chromosomes Cancer* 48, 908-924

- Dahlback HS, Gorunova L, Brandal P, Scheie D, Helseth E, Meling TR, Heim S (2011): Genomic Aberrations in Diffuse Low-Grade Gliomas. *Genes Chromosomes Cancer* 50, 409-420
- Devaux BC, O'Fallon JR, Kelly PJ (1993): Resection, biopsy, and survival in malignant glial neoplasms. A retrospective study of clinical parameters, therapy, and outcome. *J Neurosurg* 78, 767-775
- Dichamp C, Taillibert S, Aguirre-Cruz L, Lejeune J, Marie Y, Kujas M, Delattre JY, Hoang-Xuan K, Sanson M (2004): Loss of 14q chromosome in oligodendroglial and astrocytic tumors. *J Neuro-Oncol* 67, 281-285
- Dropcho EJ, Soong SJ (1996): The prognostic impact of prior low grade histology in patients with anaplastic gliomas: a case-control study. *Neurology* 47, 684-690
- du Manoir S, Schröck E, Bentz M, Speicher MR, Joos S, Ried T, Lichter P, Cremer T (1995): Quantitative analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry* 19, 27-41
- Fan H, Gulley ML (2001): DNA extraction from paraffin-embedded tissues. *Methods Mol Med* 49, 1-4
- Feiden S, Feiden W (2008): WHO-Klassifikation der ZNS-Tumoren: Revidierte Fassung von 2007 mit kritischen Anmerkungen zum „Typing“ und „Grading“ diffuser Gliome. *Pathologie* 29, 411-421
- Felsberg J, Yan PS, Huang TH, Milde U, Schramm J, Wiestler OD, Reifenberger G, Pietsch T, Waha A (2006): DNA methylation and allelic losses on chromosome arm 14q in oligodendroglial tumours. *Neuropathol Appl Neurobiol* 32, 517-524
- Forozan F, Karhu R, Kononen J, Kallioniemi A, Kallioniemi OP (1997): Genome screening by comparative genomic hybridization. *Trends Genet* 13, 405-409

- Fujisawa H, Kurrer M, Reis RM, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H (1999): Acquisition of the glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with loss of heterozygosity on 10q25-qter. *Am J Pathol* 155, 387-394
- Glas M, Happold C, Rieger J, Wiewrodt D, Bähr O, Steinbach JP, Wick W, Kortmann RD, Reifenberger G, Weller M (2009): Long-term survival of patients with glioblastoma treated with radiotherapy and lomustine plus temozolomide. *J Clin Oncol* 27, 1257-1261
- Gravendeel LA, Kouwenhoven MC, Gevaert O, de Rooi JJ, Stubbs AP, Duijm JE, Daemen A, Bleeker FE, Bralten LB, Kloosterhof NK (2009): Intrinsic Gene Expression Profiles of Gliomas Are a Better Predictor of Survival than Histology. *Cancer Res* 69, 9065-72
- Hasselblatt M (2008): Molekulare Diagnostik von Gliomen. *Pathologe* 29, 422-427
- Hill C, Hunter SB, Brat DJ (2003): Genetic markers in glioblastoma: prognostic significance and future therapeutic implications. *Adv Anat Pathol* 10, 212-217
- Hirose Y, Aldape KD, Chang S, Lamborn K, Berger MS, Feuerstein BG (2003): Grade II astrocytomas are subgrouped by chromosome aberrations. *Cancer Genet Cytogenet* 142, 1-7
- Houillier C, Lejeune J, Benouaich-Amiel A, Laigle-Donadey F, Criniere E, Mokhtari K, Thillet J, Delattre JY, Hoang-Xuan K, Sanson M (2006): Prognostic Impact of Molecular Markers in a Series of 220 Primary Glioblastomas. *Cancer* 106, 2218-23
- Houldsworth J, Chaganti RS (1994) Comparative Genomic Hybridization: An Overview. *Am J Pathol* 145, 1253-1260
- Huang CH, Mandelker D, Schmidt-Kittler O, Samuels Y, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Gabeli SB, Amzel LM (2007): The structure of a human p110a/p85a complex elucidates the effects of oncogenic PI3Ka mutations. *Science* 318, 1744-1748
- Huhn SL, Mohapatra G, Bollen A, Lamborn A, Prados MD, Feuerstein BG (1999): Chromosomal Abnormalities in Glioblastoma Multiforme by Comparative Genomic

Hybridization: Correlation with Radiation Treatment Outcome. *Clin Cancer Res* 5, 1435-1443

Ichimura K, Vogazianou AP, Liu L, Pearson DM, Bäcklund LM, Plant K, Baird K, Langford CF, Gregory SG, VP Collins (2008): 1p36 is a preferential target of chromosome 1 deletions in astrocytic tumours and homozygously deleted in a subset of glioblastomas. *Oncogene* 27, 2097-2108

Idbaih A, Marie Y, Pierron G, Brennetot C, Hoang-Xuan K, Kujas M, Mokhtari K, Sanson M, Lejeune J, Aurias A (2005): Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas. *Ann Neurol* 58, 483-487

Idbaih A, Kouwenhoven M, Jeuken J, Carpentier C, Gorlia T, Kros JM, French P, Teepen JL, Delattre O, Delattre JY (2008): Chromosome 1p loss evaluation in anaplastic oligodendrogliomas. *Neuropathology* 28, 440-443

Inda MM, Fan X, Munoz J, Perot C, Fauvet D, Danglot G, Palacio A, Madero P, Zazpe I, Portillo E (2003): Chromosomal abnormalities in human glioblastomas gain in chromosome 7p correlating with loss in chromosome 10q. *Mol Carcinog* 36, 6-14

James L (1999): Comparative genomic hybridization as a tool in tumor cytogenetics. *J Pathol* 187, 385-395

Jeremic B, Grujicic D, Antunovic V, Djuric L, Stojanovic M, Shibamoto Y (1994): Influence of extent of surgery and tumor location on treatment outcome of patients with glioblastoma multiforme treated with combined modality approach. *J Neurooncol* 21, 177-185

Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Piper J, Isola J, Waldman FM, Gray JW, Pinkel D (1994): Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 10, 231-243

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D (1992): Comparative Genomic Hybridization for Molecular Cytogenetic Analysis of Solid Tumors. *Science* 258, 818-821

- Kim AC, Peters LL, Knoll JH, van Huffel C, Ciciotte SL, Kleyn PW, Chishti AH (1997): Limatin (LIMAB1), an actin-binding LIM protein, maps to mouse chromosome 19 and human chromosome 10q25, a region frequently deleted in human cancers. *Genomics* 46, 291-293
- Klein A, Reichardt W, Jung V, Zang KD, Meese E, Urbschat S (2004): Overexpression and amplification of STK15 in human gliomas. *Int J Oncol* 25, 1789-1794
- Knobbe CB, Merlo A, Reifenberger G (2002): Pten signaling in gliomas. *Neuro-oncol* 4, 196-211
- Knuutila S, Björkqvist AM, Autio K, Tarkkanen M, Wolf M, Monni O, Szymanska J, Larramendy ML, Tapper J, Pere H (1998): DNA copy number amplifications in human neoplasms: Review of comparative genomic hybridization studies. *Am J Pathol* 152, 1107-1123
- Kolles H, Niedermayer I, Feiden W (1998): Grading von Astrozytomen und Oligodendrogliomen. *Pathologe* 19, 259-268
- Komminoth P (1992): Digoxigenin as an alternative probe labeling for in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* 1, 142-150
- Koschny R, Koschny T, Froster UG, Krupp W, Zuber MA (2002): Comparative genomic hybridization in glioma: a meta-analysis of 509 cases. *Cancer Genet Cytogenet* 135, 147-159
- Kros JM, Gorlia T, Kouwenhoven MC, Zheng PP, Collins VP, Figarella-Branger D, Giangaspero F, Giannini C, Mokhtari K, Mørk SJ (2007): Panel review of anaplastic oligodendroglioma from European Organization For Research and Treatment of Cancer of 1p/19q loss, and correlations with outcome. *J Neuropathol Exp Neurol* 66, 545-51

- Kunitz A, Wolter M, van den Boom J, Felsberg J, Tews B, Hahn M, Benner A, Sabel M, Lichter P, Reifenberger G (2007): DNA hypermethylation and Aberrant Expression of the EMP3 Gene at 19q13.3 in Human Gliomas. *Brain Pathol* 17, 363-370
- Kunwar S, Mohapatra G, Bollen A, Lamborn KR, Prados M, Feuerstein BG (2001): Genetic subgroups of anaplastic astrocytomas correlate with patient age and survival. *Cancer Res* 61, 7683-7688
- Lee Y, Scheck AC, Cloughesy TF, Lai A, Dong J, Farooqi HK, Liao LM, Horvath S, Mischel PS, Nelson SF (2008): Gene expression analysis of glioblastomas identifies the major molecular basis for the prognostic benefit of younger age. *BMC Med Genomics* 1, 52
- Lin H, Bondy ML, Langford LA, Hess KR, Delcolos GL, Wu X, Chan W, Pershouse MA, Yung WK, Steck PA (1998): Allelic deletion analyses of MMAC/PTEN and DMBT1 loci in gliomas: relationship to prognostic significance. *Clin Cancer Res* 4, 2447-2454
- Louis DN, von Deimling A, Chung RY, Rubio MP, Whaley JM, Eibl RH, Ohgaki H, Wiestler OD, Thor AD, Seizinger BR (1993): Comparative study of p53 gene and protein alterations in human astrocytic tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 52, 31-38
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P (2007): The 2007 WHO classification of the tumors of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 114, 97-109
- Maher EA, Brennan C, Wen PY, Durso L, Ligon KL, Richardson A, Khatri D, Feng B, Sinha R, Louis DN (2006): Marked genomic differences characterize primary and secondary glioblastoma subtypes and identify two distinct molecular and clinical secondary glioblastoma entities. *Cancer Res* 66, 11502-11513
- Maruno M, Yoshimine T, Muhammad AK, Ninomiya H, Kato A, Hayakawa T (1999): Chromosomal aberrations detected by comparative genomic hybridization (CGH) in human astrocytic tumors. *Cancer Lett* 135, 61-66

- Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, Haas-Kogan DA, Zhu S, Dia EQ, Lu KV, Yoshimoto K, Huang JH, Chute DJ (2005): Molecular determinants of the response of glioblastoma to EGFR kinase inhibitors. *N Engl J Med* 353, 2012-2024
- Muracciole X, Romain S, Dufour H, Palmari J, Chinot O, Ouafik L, Grisoli F, Branger DF, Martin PM (2002): PAI-1 and EGFR expression in adult glioma tumors: toward a molecular prognostic classification. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 52, 592-598
- Nakamura H, Yoshida M, Tsuiki H, Ito K, Ueno M, Nakao M, Oka K, Tada M, Kochi M, Kuratsu J (1998): Identification of a human homolog of the *Drosophila* neuralized gene within the 10q25.1 malignant astrocytoma deletion region. *Oncogene* 16, 1009-1019
- Nakamura M, Watanabe T, Klangby U, Asker C, Wiman K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H (2001 a): p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol* 11, 159-168
- Nakamura M, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H (2001 b): Promoter hypermethylation of the RB1 gene in glioblastomas. *Lab Invest* 81, 77-82
- Nishizaki T, Ozaki S, Harada K, Ito H, Arai H, Beppu T, Sasaki K (1998): Investigation of genetic alterations associated with the grade of astrocytic tumor by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 21, 340-346
- Nobusawa S, Lachuer J, Wierinckx A, Kim YH, Huang J, Legras C, Kleihues P, Ohgaki H (2010): Intratumoral Patterns of Genomic Imbalance in Glioblastomas. *Brain Pathol* 17, 1-9
- Ohgaki H, Kleihues P (2005): Population-based studies on incidence, survival rates and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 64, 479-489
- Ohgaki H, Kleihues P (2007): Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. Chemotherapy in malignant glioma: standard of care and future directions. *J Clin Oncol* 25, 4127-4136



- Ohgaki H, Kleihues P (2009): Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Sci* 100, 2235-2241
- Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, Burkhard C, Schüler D, Probst-Hensch NM, Maiorka PC (2004): Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 64, 6892-6899
- Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, Forrest WF, Soriano RH, Wu TD, Misra A, Nigro JM, Colman H, Soroceanu L (2006): Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 9, 157-173
- Quan AL, Barnett GH, Lee SY, Vogelbaum MA, Toms SA, Staugaitis SM, Prayson RA, Peereboom DM, Stevens GH, Cohen BH (2005): Epidermal growth factor receptor amplification does not have prognostic significance in patients with glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 63, 695-703
- Rainov NG, Soling A, Heidecke V (2006): Novel therapies for malignant gliomas: a local affair? *Neurosurg Focus* 20, E9
- Rasheed A, Herndon JE, Stenzel TT, Raetz JG, Kendelhardt J, Friedman HS, Friedman AH, Bigner DD, Bigner SH, McLendon RE (2002): Molecular markers of prognosis in astrocytic tumors. *Cancer* 94, 2688-2697
- Reifenberger G, Collins VP (2004): Pathology and molecular genetics of astrocytic gliomas. *J Mol Med* 82, 656-670
- Rich JN, Hans C, Jones B, Iversen ES, McLendon RE, Rasheed BK, Dobra A, Dressman HK, Bigner DD, Nevins JR (2005): Gene expression profiling and genetic markers in glioblastoma survival. *Cancer Res* 65, 4051-4058
- Ried T, Heselmeyer-Haddad K, Blegen H, Schroeck E, Auer G. (1999): Genomic changes defining the genesis, progression, and malignancy potential in solid human tumors: a phenotype/genotype correlation. *Genes Chromosomes Cancer* 25, 195-204

- Riemenschneider MJ, Reifenberger G (2009): Molecular Neuropathology of Gliomas. *Int J Mol Sci* 10, 184-212
- Roerig P, Nessling M, Radlwimmer B, Joos S, Wrobel G, Schwaenen C, Reifenberger G, Lichter P (2005): Molecular classification of human gliomas using matrix-based comparative genomic hybridization. *Int J Cancer* 117, 95-103
- Romeike BF, Jung V, Feiden W, Moringlane JR, Zang KD, Urbchat SM (2001): Distribution of Epidermal Growth Factor Receptor Protein Correlates with Gain in Chromosome 7 Revealed by Comparative Genomic Hybridization after Microdissection in Glioblastoma Multiforme. *Pathol Res Pract* 197, 427-431
- Saigusa K, Hashimoto N, Tsuda H, Yokoi S, Maruno M, Yoshimine T, Aoyagi M, Ohno K, Imoto I, Inazawa J (2005): Overexpressed Skp2 within 5p amplification detected by array-based comparative genomic hybridization is associated with poor prognosis of glioblastomas. *Cancer Sci* 96, 676-683
- Sano T, Lin H, Chen X, Langford LA, Koul D, Bondy ML, Hess KR, Myers JN, Hong YK, Yung WK (1999): Differential expression of MMAC/PTEN in glioblastoma multiforme: relationship to localization and prognosis. *Cancer Res* 59, 1820-1824
- Santos MC, Saito CP, Line SR (2008): Extraction of genomic DNA from paraffin-embedded tissue sections of human fetuses fixed and stored in formalin for long periods. *Pathol Res Pract* 204, 633-636
- Schiffer D, Cavalla P, Dutto A, Borsotti L (1997): Cell proliferation and invasion in malignant gliomas. *Anticancer Res* 17, 61-69
- Schlegel J, Scherthan H, Arens N, Stumm G, Kiessling M (1996): Detection of complex genetic alterations in human glioblastoma multiforme using comparative genomic hybridization. *J Neuropathol Exp Neurol* 55, 81-87

- Schmidt MC, Antweiler S, Urban N, Mueller W, Kuklik A, Meyer-Puttlitz B, Wiestler OD, Louis DN, Fimmers R, von Deimling A (2002): Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma. *Neuropathol Exp Neurol* 61, 321-328
- Schrock E, Blume C, Meffert MC, du Manoir S, Bersch W, Kiessling M, Lozanowa T, Thiel G, Witkowski R, Ried T (1996): Recurrent gain of chromosome arm 7q in low grade astrocytic tumors studied by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 15, 199-205
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ: ISCN 2009 - An International System for Human Cytogenetic Nomenclature: Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature Published in collaboration with 'Cytogenetic and Genome Research' Plus fold-out: "The Normal Human Karyotype G- and R-bands" hrsg. v. Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. S. Karger AG; Basel/Schweiz 2009
- Shapiro WR, Green SB, Burger PC, Mahaley MS, Selker RG, Vangilder JC, Robertson JT, Ransohoff J, Mealey J, Strike TA (1989): Randomized trial of three chemotherapy regimens and two radiotherapy regimens in postoperative treatment of malignant glioma. Brain Tumor Cooperative Group Trial 8001. *J Neurosurg* 71, 1-9
- Sherr CJ, Roberts JM (1999): CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 13, 1501-1512
- Smith JS, Tachibana I, Passe SM, Huntley BK, Borell TJ, Iturria N, O'Fallon JR, Schaefer PL, Scheithauer BW, James CD (2001): PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst* 93, 1246-1256
- Speicher MR, du Manoir S, Schröck E, Holtgreve-Grez H, Schoell B, Lengauer C, Cremer T, Ried T (1993): Molecular cytogenetic analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded solid tumors by comparative genomic hybridization after universal DNA-amplification. *Hum Mol Genet* 2, 1907-1914

- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U for the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups and the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (2005): Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352, 987-996
- Sugawa N, Ekstrand AJ, James CD, Collins VP (1990): Identical splicing of aberrant epidermal growth factor receptor transcripts from amplified rearranged genes in human glioblastomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 8602-8606
- Tada K, Shiraishi S, Kamiryo T, Nakamura H, Hirano H, Kuratsu JI, Kochi M, Saya H, Ushio Y (2001): Analysis of loss of heterozygosity on chromosome 10 in patients with malignant astrocytic tumors: correlation with patient age and survival. *J Neurosurg* 95, 651-659
- Terada K, Tamiya T, Daido S, Kambara H, Tanaka H, Ono Y, Matsumoto K, Ito S, Ouchida M, Ohmoto T (2002): Prognostic value of loss of heterozygosity around three candidate tumor suppressor genes on chromosome 10q in astrocytomas. *J Neuro-Oncol* 58, 107-114
- Tohma Y, Gratas C, Biernat W, Peraud A, Fukuda M, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H (1998): PTEN (MMAC1) mutations are frequent in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 57, 684-689
- Veiga I, Silva M, Vieira J, Pinto C, Pinheiro M, Torres L, Soares M, Santos L, Duarte H, Bastos AL (2010): Hereditary Gastrointestinal Stromal Tumors Sharing the KIT Exon 17 Germline Mutation p.Asp820Tyr Develop Through Different Cytogenetic Progression Pathways. *Genes Chromosomes Cancer* 49, 91-98
- Verhoeff JJ, Lavini C, van Linde ME, Stalpers LJ, Majoie CB, Reijneveld JC, van Furth WR, Richel DJ (2010): Bevacizumab and dose-intense temozolomide in recurrent high-grade glioma. *Ann Oncol.* 21, 1723-1727
- von Heydebreck A, Gunawan B, Füzesi L (2004): Maximum likelihood estimation of oncogenetic tree models. *Biostatistics* 5, 545-556

- Watanabe T, Katayama Y, Yoshino A, Komine C, Yokoyama T (2003): Deregulation of the TP53/p14ARF tumor suppressor pathway in lowgrade diffuse astrocytomas and its influence on clinical course. *Clin Canc Res* 9, 4884-4890
- Watanabe T, Katayama Y, Yoshino A, Yachi K, Ohta T, Ogino A, Komine C, Fukushima T (2007): Aberrant hypermethylation of p14ARF and O6-methylguanine-DNA methyltransferase genes in astrocytoma progression. *Brain Pathol* 17, 5-10
- Wemmert S, Ketter R, Rahnenfuhrer J, Beerenwinkel N, Strowitzki M, Feiden W, Hartmann C, Lengauer T, Stockhammer F, Zang KD (2005): Patients with high-grade gliomas harboring deletions of chromosomes 9p and 10q benefit from temozolomide treatment. *Neoplasia* 7, 883-893
- Wessels PH, Twijnstra A, Kessels AG, Krijne-Kubat B, Theunissen PH, Ummelen MI, Ramaekers FC, Hopman AH (2002): Gain of chromosome 7, as detected by in situ hybridization, strongly correlates with shorter survival in astrocytoma grade 2. *Genes Chromosomes Cancer* 33, 279-284
- Wiltshire RN, Herndon JE, Lloyd A, Friedman HS, Bigner DD, Bigner SH, McLendon RE (2004): Comparative Genomic Hybridization Analysis of Astrocytomas: prognostic and diagnostic implications. *J Mol Diagn* 6, 166-179
- Yadav AK, Renfrow JJ, Scholtens DM, Xie H, Duran GE, Bredel C, Vogel H, Chandler JP, Chakravarti A, Robe PA (2009): Monosomy of Chromosome 10 Associated With Dysregulation of Epidermal Growth Factor Signaling in Glioblastomas. *JAMA*. 302, 276-289
- Yakut T, Gutenberg A, Bekar A, Egeli U, Gunawan B, Ercan I, Tolunay S, Doygun M, Schulten HJ (2007): Correlation of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization and expression of EGFR, PTEN, p53, and MIB-1 in diffuse gliomas. *Oncol Rep* 17, 1037-1043
- Yamanaka R, Saya H (2009): Molecularly targeted therapies for glioma. *Ann Neurol* 66, 717-729

---

Yip S, Lafrate AJ, Louis DN (2008): Molecular diagnostic testing in malignant gliomas: a practical update on predictive markers. *J Neuropathol Exp Neurol* 67, 1-15

## 7 Abbildungsverzeichnis

1.1	.....	6
1.2	.....	11
2.1	.....	20
3.1	.....	32
3.2	.....	33
3.3	.....	34
3.4	.....	35
3.5	.....	36
3.6	.....	38
3.7	.....	40
3.8	.....	41
3.9	.....	45
3.10	.....	47
3.11	.....	48
3.12	.....	50
3.13	.....	51
3.14	.....	52
3.15	.....	53
3.16	.....	55
3.17	.....	56
3.18	.....	57
3.19	.....	58
3.20	.....	59
4.1	.....	63

## 8 Tabellenverzeichnis

2.1	.....	13
2.2	.....	14
2.3	.....	15
2.4	.....	16
2.5	.....	16
2.6	.....	16
2.7	.....	16
2.8	.....	17
2.9	.....	17
2.10	.....	17
2.11	.....	18
2.12	.....	21
2.13	.....	23
2.14	.....	25
2.15	.....	26
2.16	.....	27
3.1	.....	37
3.2	.....	39
3.3	.....	42
3.4	.....	43
3.5	.....	43
4.1	.....	66
4.2	.....	66
4.3	.....	68
4.4	.....	69
4.5	.....	70
4.6	.....	72
4.7	.....	72
4.8	.....	73
4.9	.....	74
4.10	.....	76
4.11	.....	77



---

4.12	.....	79
4.13	.....	80
4.14	.....	82
A.1	.....	108
A.2	.....	109
A.3	.....	110
A.4	.....	112
A.5	.....	113
A.6	.....	114
A.7	.....	117
A.8	.....	120
A.9	.....	121
A.10	.....	122
A.11	.....	123
A.12	.....	126
A.13	.....	127
A.14	.....	128

## A Anhang

### A.1 Klinische Profile der in der Studie untersuchten Patienten

**Tabelle A.1:** Klinisches Profil der 34 Patienten mit Tumoren des WHO-Grades II

Fall	Geschl.	Alter bei ED	Histologie	Rezidivfreie Zeit in Monaten	Überleben in Monaten	Adjuvante Therapie des Primärtumors
1	M	7	A II	66	66	Keine
2	M	23	A II	78	124	Keine
3	M	27	A II	k.A.	k.A.	Keine
4	M	28	A II	9	16	Radio
5	M	31	A II	91	91	Keine
6	M	32	A II	73	82	Radio
7	W	33	A II	k.A.	k.A.	k.A.
8	M	34	A II	32	53	Keine
9	M	35	A II	k.A.	k.A.	Keine
10	W	35	A II	69	69	k.A.
11	W	36	A II	50	89	Radio
12	W	40	A II	k.A.	k.A.	Keine
13	M	40	A II	7	91	Keine
14	W	40	A II	48	104	Radio
15	W	43	A II	73	73	Keine
16	M	43	A II	78	122	k.A.
17	M	46	A II	92	92	k.A.
18	W	47	A II	46	53	k.A.
19	M	50	A II	56	57	Keine
20	M	51	A II	k.A.	k.A.	k.A.
21	M	51	A II	69	69	k.A.
22	M	54	A II	55	65	Radio
23	W	54	A II	103	103	Radio
24	M	55	A II	28	65	Keine
25	W	59	A II	k.A.	k.A.	k.A.
26	M	60	A II	74	74	Keine
27	W	71	A II	k.A.	k.A.	k.A.
28	W	72	A II	37	37	k.A.
29	W	k.A.	OA II	k.A.	k.A.	k.A.
30	W	19	OA II	6	124	Keine
31	M	31	OA II	k.A.	k.A.	k.A.
32	M	45	OA II	25	32	Keine
33	M	54	OA II	k.A.	k.A.	k.A.
34	W	74	OA II	48	48	ChemoTem

M = männlich, W = weiblich, k.A. = keine Angabe, Keine = Patient erhielt nach Diagnosestellung keine Therapie, Radio = Patient erhielt nach Diagnosestellung nur Bestrahlungstherapie, RadioChemo = Patient erhielt nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemo- sowie Bestrahlungstherapie, Chemo = Patient erhielt nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemotherapie, ChemoTem = Patient erhielt nach Diagnosestellung ein Temozolomid- sowie Radiatio beinhaltendes Therapieregime

**Tabelle A.2:** Klinisches Profil der 54 Patienten mit Tumoren des WHO-Grades III

Fall	Geschl.	Alter bei ED	Histologie	Rezidivfreie Zeit in Monaten	Überleben in Monaten	Adjuvante Therapie des Primärtumors
35	M	k.A.	A III	9	9	k.A.
36	M	22	A III	k.A.	k.A.	Keine
37	M	23	A III	6	6	k.A.
38	W	23	A III	12	41	ChemoTem
39	M	24	A III	68	68	k.A.
40	M	24	A III	61	97	RadioChemo
41	W	25	A III	27	27	ChemoTem
42	M	29	A III	31	37	ChemoTem
43	W	29	A III	97	97	RadioChemo
44	M	29	A III	54	98	Radio
45	W	32	A III	24	24	k.A.
46	M	32	A III	60	60	k.A.
47	W	34	A III	91	91	Radio
48	M	35	A III	k.A.	k.A.	k.A.
49	W	36	A III	55	55	ChemoTem
50	M	37	A III	18	105	Radio
51	M	38	A III	12	24	Keine
52	W	39	A III	11	11	k.A.
53	M	40	A III	k.A.	k.A.	k.A.
54	M	40	A III	18	18	RadioChemo
55	W	41	A III	38	38	ChemoTem
56	M	42	A III	6	14	ChemoTem
57	M	43	A III	39	39	Radio
58	W	43	A III	k.A.	56	Radio
59	W	47	A III	33	33	RadioChemo
60	M	48	A III	k.A.	k.A.	k.A.
61	M	48	A III	17	17	ChemoTem
62	W	49	A III	145	150	Radio
63	W	50	A III	14	14	ChemoTem
64	W	51	A III	12	56	RadioChemo
65	M	52	A III	70	70	RadioChemo
66	W	52	A III	93	93	ChemoTem
67	M	53	A III	9	17	RadioChemo
68	W	56	A III	6	6	Radio
69	M	60	A III	22	22	RadioChemo
70	W	60	A III	36	44	RadioChemo
71	W	60	A III	112	112	Keine
72	W	62	A III	k.A.	k.A.	k.A.
73	M	63	A III	k.A.	k.A.	k.A.
74	W	65	A III	16	16	Radio
75	M	65	A III	58	58	ChemoTem
76	M	66	A III	k.A.	k.A.	k.A.
77	M	66	A III	7	7	RadioChemo
78	M	67	A III	51	52	ChemoTem
79	W	68	A III	k.A.	k.A.	k.A.
80	W	68	A III	k.A.	k.A.	k.A.
81	M	72	A III	0	0	Keine
82	W	74	A III	k.A.	k.A.	k.A.
83	M	76	A III	3	4	Radio
84	M	78	A III	3	3	Radio
85	W	41	OA III	k.A.	k.A.	k.A.
86	W	42	OA III	34	34	ChemoTem
87	W	57	OA III	4	4	ChemoTem
88	W	58	OA III	k.A.	k.A.	k.A.

M = männlich, W = weiblich, k.A. = keine Angabe, Keine = Patient erhielt nach Diagnosestellung keine Therapie, Radio = Patient erhielt nach Diagnosestellung nur Bestrahlungstherapie, RadioChemo = Patient erhielt

nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemo- sowie Bestrahlungstherapie, Chemo = Patient erhielt nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemotherapie, ChemoTem = Patient erhielt nach Diagnosestellung ein Temozolomid- sowie Radiatio beinhaltendes Therapieregime

**Tabelle A.3:** Klinisches Profil der 96 Patienten mit Tumoren des WHO-Grades IV

Fall	Geschl.	Alter bei ED	Histologie	Rezidivfreie Zeit in Monaten	Überleben in Monaten	Adjuvante Therapie des Primärtumors
89	W	k.A.	GBM	k.A.	k.A.	k.A.
90	M	k.A.	GBM	1	1	k.A.
91	W	k.A.	GBM	1	1	k.A.
92	W	k.A.	GBM	4	4	k.A.
93	M	k.A.	GBM	5	15	k.A.
94	W	k.A.	GBM	5	5	k.A.
95	W	k.A.	GBM	5	5	k.A.
96	W	k.A.	GBM	6	18	k.A.
97	W	k.A.	GBM	6	6	k.A.
98	M	k.A.	GBM	8	19	Radio
99	M	k.A.	GBM	8	8	k.A.
100	W	k.A.	GBM	8	8	k.A.
101	W	k.A.	GBM	8	8	k.A.
102	W	k.A.	GBM	10	10	k.A.
103	M	k.A.	GBM	11	11	k.A.
104	M	k.A.	GBM	11	11	k.A.
105	W	k.A.	GBM	13	13	k.A.
106	W	k.A.	GBM	14	14	k.A.
107	M	k.A.	GBM	16	16	k.A.
108	M	k.A.	GBM	45	45	k.A.
109	M	15	GBM	2	62	Keine
110	M	24	GBM	42	52	k.A.
111	M	32	GBM	6	12	ChemoTem
112	M	34	GBM	8	21	ChemoTem
113	M	36	GBM	22	40	Radio
114	M	37	GBM	4	31	RadioChemo
115	M	44	GBM	26	26	Chemo
116	W	44	GBM	29	29	ChemoTem
117	M	45	GBM	14	25	RadioChemo
118	M	46	GBM	9	10	ChemoTem
119	M	47	GBM	6	6	ChemoTem
120	W	48	GBM	9	29	ChemoTem
121	M	48	GBM	26	26	ChemoTem
122	W	49	GBM	9	12	ChemoTem
123	M	49	GBM	23	44	ChemoTem
124	M	50	GBM	12	12	ChemoTem
125	W	50	GBM	12	12	ChemoTem
126	M	50	GBM	19	21	ChemoTem
127	M	52	GBM	9	20	RadioChemo
128	W	53	GBM	5	16	ChemoTem
129	M	54	GBM	5	9	k.A.
130	W	54	GBM	133	133	RadioChemo
131	M	55	GBM	k.A.	k.A.	k.A.
132	W	55	GBM	6	34	Radio
133	M	55	GBM	13	18	ChemoTem
134	M	55	GBM	19	19	ChemoTem
135	M	56	GBM	17	17	ChemoTem
136	M	58	GBM	5	18	RadioChemo
137	W	58	GBM	12	31	Radio
138	M	58	GBM	16	16	ChemoTem
139	M	58	GBM	17	17	ChemoTem
140	M	58	GBM	27	27	Keine

Fall	Geschl.	Alter bei ED	Histologie	Rezidivfreie Zeit in Monaten	Überleben in Monaten	Adjuvante Therapie des Primärtumors
141	M	59	GBM	29	29	ChemoTem
142	M	60	GBM	2	2	ChemoTem
143	M	60	GBM	3	3	ChemoTem
144	M	60	GBM	4	4	Radio
145	W	60	GBM	6	15	Radio
146	M	60	GBM	12	25	ChemoTem
147	W	60	GBM	20	20	ChemoTem
148	W	61	GBM	4	5	ChemoTem
149	W	61	GBM	8	63	ChemoTem
150	W	62	GBM	k.A.	k.A.	k.A.
151	M	62	GBM	3	3	Keine
152	M	62	GBM	6	12	Keine
153	M	62	GBM	35	35	ChemoTem
154	W	63	GBM	6	10	Radio
155	M	63	GBM	7	8	Radio
156	W	63	GBM	37	38	ChemoTem
157	W	64	GBM	53	53	ChemoTem
158	W	65	GBM	15	15	ChemoTem
159	M	66	GBM	3	3	ChemoTem
160	M	66	GBM	5	5	ChemoTem
161	W	66	GBM	16	17	ChemoTem
162	W	67	GBM	8	17	ChemoTem
163	M	67	GBM	16	16	ChemoTem
164	M	68	GBM	5	5	Keine
165	M	68	GBM	37	40	ChemoTem
166	W	69	GBM	3	10	Radio
167	W	70	GBM	5	5	Keine
168	M	70	GBM	6	6	ChemoTem
169	M	70	GBM	8	8	Keine
170	W	70	GBM	12	12	ChemoTem
171	M	70	GBM	13	13	ChemoTem
172	M	70	GBM	15	15	ChemoTem
173	M	71	GBM	9	9	ChemoTem
174	W	72	GBM	2	2	Keine
175	W	72	GBM	7	7	ChemoTem
176	W	72	GBM	8	13	RadioChemo
177	W	73	GBM	2	2	Keine
178	M	73	GBM	4	4	ChemoTem
179	M	73	GBM	7	7	Radio
180	W	74	GBM	11	12	Keine
181	M	74	GBM	17	17	ChemoTem
182	M	74	GBM	22	22	ChemoTem
183	M	75	GBM	4	4	ChemoTem
184	W	80	GBM	3	3	Radio

M = männlich, W = weiblich, k.A. = keine Angabe, Keine = Patient erhielt nach Diagnosestellung keine Therapie, Radio = Patient erhielt nach Diagnosestellung nur Bestrahlungstherapie, RadioChemo = Patient erhielt nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemo- sowie Bestrahlungstherapie, Chemo = Patient erhielt nach Diagnosestellung eine nicht Temozolomid-haltige Chemotherapie, ChemoTem = Patient erhielt nach Diagnosestellung ein Temozolomid- sowie Radiatio beinhaltendes Therapieregime

## A.2 Chromosomale Profile der in der Studie untersuchten Tumoren

**Tabelle A.4:** Chromosomales Profil mittels CGH von 34 WHO-Grad-II-Tumoren

Fall	Alter bei ED	Histologie	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
1	35	A II	19p	keine	1p, 13q, 19q
2	32	A II	7q21qter, 8q21qter	keine	11p15, 13q11q21
3	46	A II	2, 7	keine	1q32qter, 6, 10, 14q, 22q
4	31	A II	keine	keine	6
5	59	A II	1q, 22q	4q12	Xq21qter
6	40	A II	7, 8p11qter, 10p	keine	9p13pter
7	40	A II	keine	keine	keine
8	34	A II	keine	keine	1p13p22, 3p11p13, 4q12q21, 22q
9	28	A II	8q, 14q22qter	keine	Xp, 10q23qter, 13q
10	33	A II	4p16, 7p21pter	keine	9p13pter, 10p, 10q
11	51	A II	keine	keine	1p, 19q
12	7	A II	keine	keine	keine
13	35	A II	10p, 12p15	keine	4q13qter
14	71	A II	7	keine	10, 13q14qter, 14q, 22q
15	43	A II	keine	keine	keine
16	43	A II	keine	keine	4q24qter, 5q14q32, 16q
17	23	A II	keine	keine	14q32qter
18	27	A II	8q21qter	keine	4q13qter, 11p15, 13q13q22, 22q
19	54	A II	18p11	keine	1p, 9p, 19q
20	47	A II	keine	keine	keine
21	36	A II	7q21qter, 8q, 12p	keine	11p14pter
22	40	A II	keine	keine	12q
23	72	A II	7, 19, 20	keine	X, 4q32qter, 9p, 10, 18q21qter
24	55	A II	8q22q23	keine	keine
25	60	A II	keine	keine	1p, 4q, 15q, 19q
26	50	A II	keine	keine	keine
27	51	A II	keine	keine	keine
28	54	A II	7q31qter, 11q23qter	keine	keine
29		OA II	Xq, 6q15q21, 7q21qter	keine	5q32qter, 6q24qter, 9p21pter, 12q21qter
30	19	OA II	7	keine	keine
31	74	OA II	7q22q34	keine	keine
32	31	OA II	keine	keine	1p, 4, 6q23qter, 19q
33	45	OA II	7q32qter, 12p	keine	3p11p24, 5p14pter, 9p
34	54	OA II	4q12q13, 7q21qter, 10p11pter	keine	6q22

**Tabelle A.5:** Chromosomales Profil mittels CGH von 54 WHO-Grad-III-Tumoren

Fall	Alter bei ED	Histologie	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
35	29	A III	keine	keine	4q13-qter, 5q14-q22, 13q21-qter, 18
36	65	A III	keine	keine	keine
37	52	A III	7, 8, 18p, 15q25qter	10p, 12p11p12, 17q22qter, 18q11q12	3p, 11p
38	23	A III	11q13q22	keine	11p, 14q22qter
39	67	A III	1q, 7, 11q13qter	keine	6q25qter, 9p13p21, 10, 14q, 15q14q21, 16q
40	35	A III	12p12pter, 16	keine	4q, 11p, 15q, 21q
41	32	A III	3q25qter, 4p, 8q13qter, 17q21qter	keine	1p22pter, 4q13qter, 13q13qter, 14q24, 19q13, 21q
42	39	A III	keine	keine	keine
43	60	A III	7, 16q12.2pter, 17q21qter, 19, 20	keine	3p22-p24, 6q25qter, 10, 11q13qter, 13q
44	49	A III	17q22qter	keine	1p, 19q
45	62	A III	7	keine	10
46	52	A III	keine	keine	6q23qter
47	41	A III	8q21qter	keine	keine
48	47	A III	7, 20q	1q31, 7p11	9p13pter, 10q
49	29	A III	3p23pter, 7q11qter, 8q21qter, 12p, 17	8q22q23	Xp, Xq21qter, 1p13pter, 3p12p21, 4q24qter, 5p14pter, 12q13qter, 20q12qter
50	40	A III	7q, 17q	keine	8q24, 9p21pter, 10q24qter
51	66	A III	7, 20	keine	3q13, 10, 13q
52	42	A III	1q31q32, 7	keine	10q, 14q, 15q15q22
53	48	A III	4q27q31, 7, 20	7p11p12	10, 14q11q12, 15q11q15
54	43	A III	7q	keine	keine
55	40	A III	7, 8, 11	keine	9p21pter
56	29	A III	19p	keine	6q, 9p21pter, 13q
57	63	A III	7	2p15p21	6q16qter, 9, 10, 13q
58	60	A III	7, 12q13q14	keine	10, 13q14q21, 14q11q13
59	68	A III	keine	keine	1p, 19q
60		A III	keine	keine	8q12q23
61	25	A III	8	keine	keine
62	78	A III	7	7p11p12	10, 14q, 22q
63	34	A III	7q21qter	keine	keine
64	23	A III	2p23pter, 3q26, 9q, 17q21qter, 18p	keine	3q24q25, 9p13pter, 10q24qter, 18q
65	76	A III	5, 7, 9q21qter	7p11p13, 7q21	9p13pter, 10, 22q
66	66	A III	7	keine	10, 22q
67	32	A III	10p	keine	keine
68	56	A III	1, 7, 17p, 20	7p11p12	4, 9p13p21, 10, 13q13qter
69	72	A III	11q12q13, 11q23, 21q	keine	13q, 18
70	37	A III	7q11, 7q22qter, 17q21qter, 19p	keine	Xp, 9p21pter
71	65	A III	17q21qter	keine	1p, 2q35qter, 19q
72	43	A III	7q31qter, 12p	keine	1q31qter, 2q35qter, 9p13pter
73	36	A III	7q21qter, 8q23qter, 10p	keine	keine
74	24	A III	10p	keine	9p13pter, 22q
75	51	A III	7	keine	10
76	48	A III	keine	keine	keine
77	68	A III	7, 12q13, 20	7p11p12, 18q11q12	5p, 10

Fall	Alter bei ED	Histologie	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
78	74	A III	Xp21pter, 1q21q23, 2p23pter, 2q11q13, 13q23qter, 15q24qter, 18q12qter	4q11q13, 12q13q21	4q28qter, 8p, 10q21qter, 11p14pter, 12p11p12, 12q24qter, 16q12q21
79	22	A III	10p12pter	keine	keine
80	53	A III	7, 9q21qter, 17q22, 20, 19	keine	6q11q14, 9p, 10, 13q, 15q
81	50	A III	keine	9p	4q21qter, 5q14qter, 13q
82	60	A III	19, 2	7p11p12	1q41, 9p, 10
83	38	A III	3p25-p24, 7, 19p, 20	7p11	2q21-qter, 9q22-qter, 10, 18
84	24	A III	7q, 8q, 10p	keine	1q24q32
85	57	OA III	keine	keine	keine
86	58	OA III	7, 9q, 15q	7p12-p13	10, 13q
87	41	OA III	12p12pter	keine	10q23qter, 13q21qter
88	42	OA III	2p22pter, 8q22qter, 9p23pter, 10p, 12q24q24	keine	3p12pter, 4q13qter, 5q31qter, 6p22pter, 10q22qter, 11p, 13q12q14, 13q32qter, 16q21qter, 17q12q21, 22q13q13

**Tabelle A.6:** Chromosomales Profil mittels CGH von 96 WHO-Grad-IV-Tumoren

Fall	Alter bei ED	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
89		7, 19p, 20	keine	6q21q23, 9, 10
90		keine	keine	6
91	59	7p13q22, 19, 20	keine	1p36p36, 9p, 9p21, 10, 13q, 22q
92		4p, 9p12qter, 11q, 12p12pter, 17p, 20q12	keine	Xq23qter, 9p21pter, 10q24qter, 14q21qter
93		7, 20p	keine	8q23qter, 10q, 14q24qter, 17q, 22q
94		2, 7q, 16p, 17q21qter, 20	keine	9p, 9q33qter, 10q, 13q, 18
95	44	7	keine	keine
96	45	7p12pter, 7q	7p11.2	10, 13q14q21
97	36	X, 3p12p14, 7pterq11.2, 12	Xp22, 12p12pter	3p24pter, 9p
98	68	7p	keine	3p14p21, 9q, 10
99	54	7p12-pter, 7q11.1-q21, 7q31-qter, 19, 20	7p11.1-p12	1q32-q41, 9p13-pter, 10, 13q11-q31
100	70	7, 9q11q31, 20p	7p11	10
101	73	12pterq14, 12q24, 19, 20	7p11p12, 7q21	10q
102	63	7q, 7p12-pter, 13q31-q32	7q11.1-q11.2, 12q13-q21, 13q32-q34	10
103	60	7	1q31q32	10
104	70	7	keine	10
105	73	7p12qter	keine	1p11p22, 9p21pter, 10p, 10q21qter
106		7	7p11	9p13p21, 10, 14q11q22
107	58	7, 19	keine	10
108	62	7	keine	9p21, 10, 14q
109	46	7	keine	9, 10
110		7, 16q12	1p36	10, 14q, 22q
111	58	1, 1q31, 1q41q42, 7, 7p15q22	keine	10, 13q, 14q
112	74	7, 19	keine	9pterq13, 10, 15q12q21, 20p
113		7q12qter, 12q13q21, 20	7p14q11	8p11p21, 9p13p21, 10



Fall	Alter bei ED	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
114	44	4p12p14, 5p12p13, 6q11q24, 7q21q32, 8q, 11q13qter	7q31, 8q23	5q31qter, 10, 14q22qter, 15q
115	70	4q11q13, 7	keine	10, 11, 14q
116	62	7	keine	10
117	72	7	keine	10
118	55	7	X, 7p11p13	1p34.1-pter, 10, 14q11q13, 14q22qter, 18p11
119	54	keine	keine	13q
120	74	7, 20	7p11	9p13pter, 10
121		7, 2	7p11	9p11p21, 10, 13q
122	49	7p	keine	10
123		keine	keine	17p
124		7, 12q13	keine	10, 15q
125		7q11	keine	9p
126	75	7	keine	10, 14q23qter, 22q
127	72	7, 12p11p12	keine	10
128	66	7	keine	10, 13q14q21, 14q12qter
129	56	2q15qter, 7, 17q22qter	12p12pter	8q21q23, 9p13pter, 10q, 14q12q24, 15q15q22, 18q21qter
130	73	1q31, 7	keine	6q22qter, 9p13pter, 10, 13q, 14q11q13, 15q
131	60	7	keine	10q22qter
132	67	7, 20p11p12	keine	10
133	60	7	keine	10
134	72	7pterq22	keine	1q32q42, 10
135	24	10p11.2-pter, 20p12-pter	keine	11p12-pter
136	53	7	keine	10, 13q, 14q11q24, 16q, 19q, 22q
137	48	1	keine	10, 13q, 14q
138	64	7	keine	10, 22q
139	66	7	keine	10, 15q11q22
140	55	7	keine	10
141	58	keine	keine	10
142	61	7, 19q	7p11	6, 1
143	32	1, 7, 18, 19, 21q	keine	4, 8, 9, 10, 11, 12, 13q, 14q13qter, 15q, 16q, 22q
144	60	keine	keine	keine
145	62	7	4q12q13, 12q14q21	10, 15q, 19p
146	55	7	3q26	10
147	70	7, 10p15p15	7p11p12	3p22pter, 3q12q26, 6, 8q11q22, 9p, 10p14qter, 14q21qter, 18q21qter, 22q
148	55	7	keine	9p13pter, 10
149		keine	keine	keine
150	63	7p11	keine	10, 22q
151	68	12p12q22	3q25qter, 7p15q34, 12q14q15	2, 8, 10, 14q, 15q22qter
152		7	keine	9p, 10, 14q, 19q
153	65	3, 7, 8, 10pterq22	keine	10q22qter
154	62	keine	keine	10, 16q
155	48	7	7p11	10
156	80	7	keine	10, 14q31qter, 15q
157		7, 19p, 20	keine	9p13p23, 10
158	58	7p12pter, 7q	7p11.2	X, 6q22-q24, 8p21-pter, 10q
159	66	3q25q27, 5q31qter, 7	keine	4p14pter, 9p13pter, 10, 13q12q21, 14q, 16p11qter, 22q
160	52	7	keine	X, 6q22qter, 10, 16q, 22q
161	67	keine	keine	8q23qter, 10
162		16q	keine	9p13, 13q

Fall	Alter bei ED	Zugewinne	Amplifikationen	Verluste
163	37	7, 19, 20	keine	X, 6q, 8p, 9p21, 10
164	50	3, 7, 8	keine	9q, 10, 15q
165	49	7, 19	7p11	9p21, 10, 15q
166	74	20q	20p	8,10,14q, 15q, 16q, 22q
167	50	7, 20p	7p11	10, 19p
168		keine	keine	keine
169	47	7, 18, 19, 20	keine	9p12pter, 10, 12p11
170	50	3, 12q15q15	keine	2, 2p13p16, 9p, 9q22qter, 10, 11, 13q
171	60	keine	keine	10
172		X, 7	keine	keine
173		7q, 8q23qter	keine	1p, 4q31, 9p, 10q24qter
174	61	10p, 17q22qter	keine	3p11p21, 4q22qter, 5q21qter, 9p21pter
175	34	keine	keine	6, 9p21pter, 10, 11q, 13q, 14q, 15q
176	60	7pterq22	keine	10, 15q
177	58	7	keine	10q24qter
178		3p21pter, 11q	keine	11p12pter, 13q, 15q
179	71	7, 19	keine	3q13, 9p13, 10, 13q, 22q
180	63	X,7p12pter, 7q	1q31q32, 7p11.2	9p, 10
181	69	7p12pter, 7q	7p11.2	10
182	15	3, 4p, 6p21q13, 7q, 8, 9q, 12, 15q, 19pterq12	15q24q25	4q13q26, 4q32qter, 5p, 6p22pter, 9p13pter, 10, 11, 13q, 16q, 18, 19q13
183	70	7	7p11	10, 14q11q13
184	70	3, 7, 8	12q13q15	9q34q34, 14q11q12, 15q11q22

### A.3 Häufigkeit chromosomaler Aberrationen einzelner

Chromosomenarme sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit

**Tabelle A.7:** Häufigkeit chromosomaler Aberrationen einzelner Chromosomenarme sowie statistische Signifikanz des Einflusses der Veränderungen auf die rezidivfreie Zeit in 184 primären Astrozytomen WHO-Grad II-IV (34 WHO-Grad II, 54 WHO-Grad III, 96 WHO-Grad IV)\*

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad II	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad III	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad IV
1p +	0,0 %		1,9 %	0,2638	4,2 %	0,8961
1p -	<b>17,6 %</b>	0,1723	9,3 %	<b>0,0027</b>	4,2 %	0,1031
1q +	2,9 %		9,3 %	0,1530	7,3 %	0,0899
1q -	2,9 %	0,1074	5,6 %	0,3582	2,1 %	0,2386
2p +	0,0 %		7,4 %	0,4366	1,0 %	0,8415
2p -	0,0 %		0,0 %		2,1 %	0,6760
2q +	0,0 %		1,9 %		2,1 %	0,7708
2q -	0,0 %		5,6 %	0,8694	2,1 %	0,6760
3p +	0,0 %		3,7 %	0,6582	7,3 %	0,6997
3p -	5,9 %	0,1217	7,4 %	0,0633	4,2 %	0,5467
3q +	0,0 %		3,7 %	0,2629	8,3 %	0,5137
3q -	0,0 %		3,7 %	0,8378	2,1 %	0,9105
4p +	2,9 %		1,9 %	0,1742	3,1 %	0,8214
4p -	2,9 %		1,9 %	0,2638	2,1 %	0,5922
4q +	2,9 %		3,7 %	0,4511	2,1 %	0,1782
4q -	<b>26,5 %</b>	0,8150	<b>14,8 %</b>	0,5776	4,2 %	0,9496
5p +	0,0 %		1,9 %	0,2210	1,0 %	0,3566
5p -	2,9 %	0,2537	3,7 %	0,1275	1,0 %	0,2391
5q +	0,0 %		1,9 %	0,2210	1,0 %	0,9730
5q -	5,9 %	0,8253	5,6 %	0,7719	2,1 %	0,9378
6p +	0,0 %		0,0 %		1,0 %	0,2391
6p -	5,9 %	<b>0,0199</b>	1,9 %	0,3779	5,2 %	0,5672
6q +	2,9 %		0,0 %		2,1 %	0,8558
6q -	<b>14,7 %</b>	<b>0,0199</b>	<b>11,1 %</b>	0,9657	9,4 %	0,1081
7p +	<b>17,6 %</b>	0,6862	<b>38,9 %</b>	<b>0,0128</b>	<b>75,0 %</b>	<b>0,0157</b>
7p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
7q +	<b>35,3 %</b>	0,4964	<b>51,9 %</b>	0,0973	<b>76,0 %</b>	<b>0,0321</b>
7q -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
8p +	2,9 %		5,6 %	0,1051	4,2 %	0,6206
8p -	0,0 %		1,9 %		6,3 %	0,1093
8q +	<b>17,6 %</b>	0,0728	<b>16,7 %</b>	<b>0,0043</b>	6,3 %	0,2365
8q -	0,0 %		3,7 %	0,7966	7,3 %	0,4503
9p +	0,0 %		3,7 %	0,9860	1,0 %	0,5207
9p -	<b>14,7 %</b>	0,6040	<b>27,8 %</b>	0,4836	<b>35,4 %</b>	0,8083
9q +	0,0 %		7,4 %	0,2229	3,1 %	0,7048

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	WHO-Grad II	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	WHO-Grad III	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	WHO-Grad IV
9q -	0,0 %		3,7 %	0,3648	9,4 %	0,9362
10p +	8,8 %		<b>13,0 %</b>	<b>0,0065</b>	4,2 %	0,6873
10p -	<b>11,8 %</b>	0,1482	<b>31,5 %</b>	<b>0,0087</b>	<b>72,9 %</b>	<b>0,0049</b>
10q +	2,9 %		0,0 %		1,0 %	0,9092
10q -	<b>11,8 %</b>	0,6322	<b>44,4 %</b>	<b>0,0055</b>	<b>82,3 %</b>	<b>0,0008</b>
11p +	0,0 %		1,9 %		0,0 %	
11p -	8,8 %	0,4408	9,3 %	0,3744	6,3 %	0,9127
11q +	2,9 %	0,5324	7,4 %	0,1788	3,1 %	0,1305
11q -	0,0 %		1,9 %	0,7205	5,2 %	0,1709
12p +	8,8 %	0,1757	9,3 %	0,0888	7,3 %	0,3146
12p -	0,0 %		1,9 %		2,1 %	0,2630
12q +	0,0 %		7,4 %	0,8308	<b>10,4 %</b>	0,2253
12q -	5,9 %	0,4063	3,7 %	0,1275	1,0 %	0,4312
13p +	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
13p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
13q +	0,0 %		1,9 %		1,0 %	0,4312
13q -	<b>14,7 %</b>	0,6891	<b>25,9 %</b>	0,2112	<b>19,8 %</b>	0,9660
14p +	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
14p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
14q +	2,9 %	0,2272	0,0 %		0,0 %	
14q -	8,8 %	0,1857	<b>13,0 %</b>	0,1762	<b>26,0 %</b>	<b>0,0353</b>
15p +	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
15p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
15q +	0,0 %		5,6 %	0,1275	1,0 %	0,2391
15q -	2,9 %	0,2918	9,3 %	0,1209	<b>17,7 %</b>	0,2199
16p +	0,0 %		3,7 %	0,7205	1,0 %	0,8415
16p -	0,0 %		0,0 %		1,0 %	0,9730
16q +	0,0 %		3,7 %	0,7205	2,1 %	0,5811
16q -	2,9 %	0,8253	5,6 %	0,5627	7,3 %	0,5338
17p +	0,0 %		3,7 %	0,7709	2,1 %	0,1751
17p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
17q +	0,0 %		<b>18,5 %</b>	0,0839	3,1 %	0,7124
17q -	0,0 %		0,0 %	0,3779	1,0 %	0,7663
18p +	2,9 %	0,1074	3,7 %	0,2157	2,1 %	0,2630
18p -	0,0 %		5,6 %	0,1084	3,1 %	0,3030
18q +	0,0 %		5,6 %	0,1275	2,1 %	0,2630
18q -	2,9 %	0,6964	7,4 %	0,1927	4,2 %	0,8110
19p +	5,9 %	0,3583	<b>11,1 %</b>	0,5455	<b>13,5 %</b>	0,7376
19p -	0,0 %		0,0 %		2,1 %	0,8870
19q +	2,9 %	0,6964	5,6 %	0,9396	<b>12,5 %</b>	0,6614
19q -	<b>14,7 %</b>	<b>0,0322</b>	7,4 %	<b>0,0119</b>	3,1 %	0,0906
20p +	5,9 %	0,1482	<b>14,8 %</b>	0,2475	17,7 %	0,5130
20p -	0,0 %		0,0 %		1,0 %	0,8339
20q +	5,9 %	0,1482	<b>16,7 %</b>	0,2052	<b>13,5 %</b>	0,9116
20q -	0,0 %		1,9 %	0,1275	0,0 %	
21p +	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
21p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
21q +	0,0 %		1,9 %	0,1971	1,0 %	0,4312
21q -	0,0 %		3,7 %	0,1742	0,0 %	
22p +	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
22p -	0,0 %		0,0 %		0,0 %	

Chromosom	Aberrationen WHO-Grad II prozentual	WHO-Grad II	Aberrationen WHO-Grad III prozentual	WHO-Grad III	Aberrationen WHO-Grad IV prozentual	WHO-Grad IV
<b>22q +</b>	2,9 %		0,0 %		0,0 %	
<b>22q -</b>	<b>11,8 %</b>	0,6588	9,3 %	0,5974	<b>13,5 %</b>	0,2746
<b>Xp +</b>	0,0 %		1,9 %		4,2 %	0,5900
<b>Xp -</b>	5,9 %	0,5545	3,7 %	0,5283	3,1 %	0,1576
<b>Xq +</b>	2,9 %		0,0 %		4,2 %	0,5900
<b>Xq -</b>	5,9 %	0,6964	1,9 %	0,1275	4,2 %	0,3659
<b>Yp +</b>	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
<b>Yp -</b>	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
<b>Yq +</b>	0,0 %		0,0 %		0,0 %	
<b>Yq -</b>	0,00 %		0,0 %		0,00 %	

\* Veränderungen, die häufiger als 10% vorkamen, wurden fett hervorgehoben.

\* signifikante p-Werte fett hervorgehoben; freie Felder bedeuten, dass die Berechnung aufgrund ungenügender Fallzahlen mit den entsprechenden Aberrationen nicht durchführbar war.

## A.4 Rezidivfreie Zeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit signifikantem Einfluss

**Tabelle A.8:** Rezidivfreie Zeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit  
signifikantem Einfluss in 24 Astrozytomen WHO-Grad II

<b>Aberration</b>	<b>Kategorie</b>	<b>mit Aberration</b>	<b>ohne Aberration</b>
<b>-6p</b>	Anzahl der Fälle	2	22
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	91,5	51,4
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	91,5	52,5
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	91,0	6,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	92,0	103,0
<b>-6q</b>	Anzahl der Fälle	2	22
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	91,5	51,4
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	91,5	52,5
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	91,0	6,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	92,0	103,0
<b>-19q</b>	Anzahl der Fälle	3	21
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	82,0	50,8
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	74,0	50,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	69,0	6,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	103,0	92,0

**Tabelle A.9:** Rezidivfreie Zeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit  
signifikantem Einfluss in 41 Astrozytomen WHO-Grad III

<b>Aberration</b>	<b>Kategorie</b>	<b>mit Aberration</b>	<b>ohne Aberration</b>
<b>-1p</b>	Anzahl der Fälle	4	37
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	90,0	30,3
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	78,5	18,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	58,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	145,0	112,0
<b>+7p</b>	Anzahl der Fälle	15	26
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	28,1	40,8
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	12,0	32,5
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	3,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	112,0	145,0
<b>+8q</b>	Anzahl der Fälle	8	33
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	58,1	30,8
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	57,5	17,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	27,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	97,0	145,0
<b>+10p</b>	Anzahl der Fälle	6	35
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	55,8	32,8
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	58,0	18,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	24,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	93,0	145,0
<b>-10p</b>	Anzahl der Fälle	12	29
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	24,2	41,1
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	12,0	33,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	3,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	112,0	145,0
<b>-10q</b>	Anzahl der Fälle	17	24
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	22,8	45,6
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	12,0	38,5
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	3,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	112,0	145,0
<b>-19q</b>	Anzahl der Fälle	3	38
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	87,7	32,1
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	60,0	20,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	58,0	0,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	145,0	112,0

**Tabelle A.10:** Rezidivfreie Zeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit  
signifikantem Einfluss in 93 Astrozytomen WHO-Grad IV

<b>Aberration</b>	<b>Kategorie</b>	<b>mit Aberration</b>	<b>ohne Aberration</b>
<b>+7p</b>	Anzahl der Fälle	69	24
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	11,4	19,2
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	8,0	11,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	1,0	1,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	53,0	133,0
<b>+7q</b>	Anzahl der Fälle	71	22
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	11,1	20,6
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	8,0	11,5
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	1,0	1,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	53,0	133,0
<b>-10p</b>	Anzahl der Fälle	69	24
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	11,4	19,0
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	8,0	12,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	1,0	1,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	53,0	133,0
<b>-10q</b>	Anzahl der Fälle	77	16
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	11,4	22,8
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	8,0	12,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	1,0	1,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	53,0	133,0
<b>-14q</b>	Anzahl der Fälle	25	68
	Mittlere rezidivfreie Zeit in Monaten	8,4	15,2
	Mediane rezidivfreie Zeit in Monaten	6,0	10,0
	Minimale rezidivfreie Zeit in Monaten	1,0	1,0
	Maximale rezidivfreie Zeit in Monaten	29,0	133,0



## A.5 Statistische Signifikanz des Einflusses chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit

**Tabelle A.11:** Statistische Signifikanz des Einflusses chromosomaler Aberrationen auf die Gesamtüberlebenszeit in primären Gliomen WHO-Grad II-IV\*

Chromosom	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad II	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad III	Statistische Signifikanz (p-Wert) WHO-Grad IV
+1p		0,2648	0,7696
-1p	0,8400	<b>0,0048</b>	0,1537
+1q		0,1013	0,2459
-1q	0,5715	0,4824	0,2635
+2p		0,6962	0,3269
-2p			0,6162
+2q			0,4302
-2q		0,5157	0,6162
+3p		0,1567	0,7509
-3p	<b>0,0436</b>	0,1310	0,5043
+3q		0,3956	0,3230
-3q		0,2648	0,2402
+4p		0,9432	0,4257
-4p		0,2648	0,6431
+4q		0,3898	0,1805
-4q	0,3578	0,7182	0,7479
+5p		0,2355	0,4454
-5p	0,13	0,1422	
+5q		0,2355	0,8973
-5q	0,7815	0,5115	0,9176
+6p			
-6p	0,8932	0,5688	0,1428
+6q			0,4454
-6q	0,7657	0,9274	0,3897
+7p	0,4109	<b>0,0393</b>	<b>0,0038</b>
-7p			
+7q	0,2277	0,4999	<b>0,0012</b>
-7q			
+8p		0,2081	0,3284
-8p			0,7346
+8q	0,4999	0,0953	0,6243
-8q		0,6157	0,1151
+9p		0,7608	0,7210

Chromosom	WHO-Grad II	WHO-Grad III	WHO-Grad IV
-9p	0,3064	0,6898	0,2318
+9q		0,0611	0,9915
-9q		0,6101	0,4375
+10p		<b>0,0381</b>	0,6366
-10p	0,7193	<b>0,0441</b>	0,0906
+10q			0,7098
-10q	0,7639	<b>0,0150</b>	<b>0,0108</b>
+11p			
-11p	0,8546	0,4223	0,2347
+11q	0,3150	0,2263	0,2984
-11q		0,7035	0,6193
+12p	0,0905	0,1976	0,6689
-12p			0,3249
+12q		0,8639	0,4951
-12q	0,1832	0,1422	0,6012
+13p			
-13p			
+13q			0,6534
-13q	0,4865	0,0642	0,9593
+14p			
-14p			
+14q	1,0000		
-14q	0,3502	0,0517	<b>0,0223</b>
+15p			
-15p			
+15q		0,2121	
-15q	0,5647	0,1179	0,0973
+16p		0,7035	0,3269
-16p			0,8973
+16q		0,7035	0,2009
-16q	0,7815	0,8426	0,9339
+17p		0,8005	0,3909
-17p			
+17q		<b>0,0409</b>	0,2456
-17q		0,5688	0,3636
+18p	0,8028	0,9241	0,3249
-18p		0,3870	0,9655
+18q		0,2121	0,3249
-18q	0,9452	0,1806	0,2388
+19p	0,6412	0,3275	0,7640

Chromosom	WHO-Grad II	WHO-Grad III	WHO-Grad IV
-19p			0,2722
+19q	0,9452	0,8416	0,2924
-19q	0,5857	<b>0,0192</b>	0,8278
+20p	0,7193	0,6226	0,6848
-20p			0,8973
+20q	0,7193	0,4416	0,4871
-20q		0,1422	
+21p			
-21p			
+21q		0,1981	0,6012
-21q		0,9432	
+22p			
-22p			
+22q			
-22q	0,1824	0,4230	0,9010
+Xp			0,2861
-Xp	0,9603	0,0875	0,5485
+Xq			0,2861
-Xq	0,9452	0,1422	0,4813
+Yp			
-Yp			
+Yq			
-Yq			

\* signifikante p-Werte fett hervorgehoben; freie Felder bedeuten, dass die Berechnung aufgrund ungenügender Fallzahlen mit den entsprechenden Aberrationen nicht durchführbar war.

## A.6 Gesamtüberlebenszeit der Patienten mit und ohne Aberrationen mit signifikantem Einfluss

**Tabelle A.12:** Gesamtüberlebenszeiten der Patienten mit und ohne Aberrationen mit  
signifikantem Einfluss in 24 Astrozytomen WHO-Grad II

Aberration	Kategorie	mit Aberration	ohne Aberration
<b>-3p</b>	Anzahl der Fälle	2	22
	Mittleres Überleben in Monaten	42,0	77,9
	Medianes Überleben in Monaten	42,0	73,5
	Minimales Überleben in Monaten	32,0	16,0
	Maximales Überleben in Monaten	53,0	124,0

**Tabelle A.13:** Gesamtüberlebenszeiten der Patienten mit und ohne Aberrationen mit  
signifikantem Einfluss in 42 Astrozytomen WHO-Grad III

<b>Aberration</b>	<b>Kategorie</b>	<b>mit Aberration</b>	<b>ohne Aberration</b>
<b>-1p</b>	Anzahl der Fälle	4	38
	Mittleres Überleben in Monaten	91,2	38,5
	Medianes Überleben in Monaten	78,5	30,0
	Minimales Überleben in Monaten	58,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	150,0	112,0
<b>+7p</b>	Anzahl der Fälle	15	27
	Mittleres Überleben in Monaten	33,6	49,0
	Medianes Überleben in Monaten	22,0	39,0
	Minimales Überleben in Monaten	3,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	112,0	150,0
<b>+10p</b>	Anzahl der Fälle	6	36
	Mittleres Überleben in Monaten	61,8	40,4
	Medianes Überleben in Monaten	61,5	30,0
	Minimales Überleben in Monaten	24,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	97,0	150,0
<b>-10p</b>	Anzahl der Fälle	12	30
	Mittleres Überleben in Monaten	30,3	48,8
	Medianes Überleben in Monaten	19,5	38,5
	Minimales Überleben in Monaten	3,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	112,0	150,0
<b>-10q</b>	Anzahl der Fälle	17	25
	Mittleres Überleben in Monaten	27,6	54,3
	Medianes Überleben in Monaten	18,0	55,0
	Minimales Überleben in Monaten	3,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	112,0	150,0
<b>+17q</b>	Anzahl der Fälle	10	32
	Mittleres Überleben in Monaten	64,8	36,8
	Medianes Überleben in Monaten	59,0	30,0
	Minimales Überleben in Monaten	6,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	150,0	112,0
<b>-19q</b>	Anzahl der Fälle	3	39
	Mittleres Überleben in Monaten	89,3	40,0
	Medianes Überleben in Monaten	60,0	33,0
	Minimales Überleben in Monaten	58,0	0,0
	Maximales Überleben in Monaten	150,0	112,0

**Tabelle A.14:** Gesamtüberlebenszeiten der Patienten mit und ohne Aberrationen mit signifikantem Einfluss in 93 Astrozytomen WHO-Grad IV

<b>Aberration</b>	<b>Kategorie</b>	<b>mit Aberration</b>	<b>ohne Aberration</b>
<b>+7p</b>	Anzahl der Fälle	69	24
	Mittleres Überleben in Monaten	15,2	26,2
	Medianes Überleben in Monaten	12,0	18,0
	Minimales Überleben in Monaten	1,0	1,0
	Maximales Überleben in Monaten	63,0	133,0
<b>+7q</b>	Anzahl der Fälle	71	22
	Mittleres Überleben in Monaten	15,6	25,8
	Medianes Überleben in Monaten	12,0	18,0
	Minimales Überleben in Monaten	1,0	1,0
	Maximales Überleben in Monaten	63,0	133,0
<b>-10q</b>	Anzahl der Fälle	77	16
	Mittleres Überleben in Monaten	16,4	25,9
	Medianes Überleben in Monaten	13,0	14,5
	Minimales Überleben in Monaten	1,0	1,0
	Maximales Überleben in Monaten	63,0	133,0
<b>-14q</b>	Anzahl der Fälle	25	68
	Mittleres Überleben in Monaten	12,3	20,1
	Medianes Überleben in Monaten	12,0	15,0
	Minimales Überleben in Monaten	1,0	1,0
	Maximales Überleben in Monaten	34,0	133,0