

Aus dem CharitéCentrum 14 – Tumormedizin  
Klinik für Hämatologie und Onkologie  
Campus Benjamin Franklin  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Eckhard Thiel

## Habilitationsschrift

# **Therapeutische Implikationen physiologischer Barrieren bei Tumormanifestation**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Philipp Kiewe**  
**geboren am 08.12.1975 in Berlin**

Eingereicht: Oktober 2010  
Dekanin: Frau Prof. Dr. med. A. Grütters-Kieslich  
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Uwe Schlegel  
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Hochhaus

<b>Abkürzungen</b>	<b>4</b>
<b>1. Einleitung und Zielsetzung</b>	<b>6</b>
<b>2. Die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Aufbau und Funktion</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke bei Tumoren des ZNS</b>	<b>8</b>
<b>2.3 ZNS-Gängigkeit von Zytostatika</b>	<b>8</b>
2.3.2 Liquorpenetration von Ifosfamid und des aktiven Metaboliten 4-OH-Ifosfamid	9
Publikation I	11
<b>3. Lymphome des zentralen Nervensystems</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Definition</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Therapie und Prognose</b>	<b>19</b>
3.2.1 Langzeitergebnisse im Zeitalter der Hochdosis-Methotrexat Therapie bei unselektionierten Patienten mit primärem ZNS-Lymphom	22
Publikation II	24
3.2.2 Kombinationstherapie mit Hochdosis-Methotrexat und Ifosfamid bei Lymphommanifestationen im ZNS	34
Publikation III	35
3.2.3 Therapie mit <sup>90</sup> Yttrium-Ibritumomab tiuxetan bei rezidierten ZNS-Lymphomen und Darstellung der ZNS-Gängigkeit mit <sup>111</sup> Indium-Ibritumomab tiuxetan	43
Publikation IV	45
3.2.4 Meningeale Beteiligung beim primären ZNS-Lymphom	53
Publikation V	55
<b>4. ZNS Manifestationen solider Tumore</b>	<b>65</b>
<b>4.1 Hirnmetastasen</b>	<b>65</b>
<b>4.2 Meningeosis neoplastica</b>	<b>65</b>
<b>4.3 Systemische Therapie bei ZNS-Metastasierung</b>	<b>66</b>

4.3.1 Chemotherapie mit Topotecan und Ifosfamid bei Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica solider Tumore	67
Publikation VI	69
<b>5. Maligne Ergüsse</b>	<b>76</b>
<b>5.1 Therapie mit trifunktionalen Antikörpern</b>	<b>77</b>
5.1.1 Therapie des malignen Pleuraergusses mit dem anti-EpCAM x anti-CD3 Antikörper Catumaxomab	79
Publikation VII	81
5.1.2 Neue Therapiemöglichkeiten beim Mammakarzinom mit dem anti-HER2 x anti-CD3 Antikörper Ertumaxomab	90
Publikation VIII	92
<b>6. Diskussion</b>	<b>100</b>
<b>6.1 Therapie von Lymphomen des ZNS, Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica</b>	<b>100</b>
<b>6.2 Trifunktionale Antikörper in der intrakavitären und systemischen Therapie</b>	<b>104</b>
<b>7. Zusammenfassung</b>	<b>106</b>
<b>8. Literatur</b>	<b>108</b>
<b>Danksagung</b>	<b>114</b>
<b>Erklärung</b>	<b>115</b>

## Abkürzungen

BCNU	Carmustin
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BLS	Blut-Liquor-Schranke
CD	Cluster of differentiation
CHOP	Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Prednisolon
CR	Complete remission (komplette Remission)
CT	Computertomographie
CTC	Comon toxicity criteria
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma (Diffus-großzelliges B-Zell Lymphom)
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGF	epidermal-growth-factor
EFS	Ereignisfreies Überleben ( <i>event-free survival</i> )
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G-CSF	Granulozyten-stimulierender Faktor
G-PCNSL-SG	German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group
HAMA	Human anti-mouse antibody
HARA	Human anti-rat antibody
HD-AraC	Hochdosis Cytarabin
HD-MTX	Hochdosis-Methotrexat
HIV	Human immunodeficiency virus
HPLC	high-performance liquid chromatography
IFN	Interferon
IFO	Ifosfamid
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IPCG	International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group
KPS	Karnofsky Performance score
MRP-1	Multiple resistance protein 1
MRT	Magnetresonanztomographie
MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center

mTOR	Mammalian target of rapamycin
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NSCLC	Non-small-cell lung cancer (Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom)
OAS	Overall survival
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PET	Positronen-Emissionstomographie
PD	Progressive disease (progrediente Erkrankung)
PR	Partielle Remission
(P)IOL	Primäres intraokuläres Lymphom
PZNSL	Primäres ZNS-Lymphom
SD	Stable disease
SPECT	Single-photon-emission computed tomography
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TOPO	Topotecan
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WBRT	Whole-brain radiotherapy (Ganzhirnbestrahlung)
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 1. Einleitung und Zielsetzung

In den vergangenen Jahren und Jahrzehnten konnte die Prognose zahlreicher maligner Erkrankungen durch multimodale Therapieverfahren oder Optimierung der zytostatischen Systemtherapie verbessert werden. Nicht zuletzt haben neue Zytostatika und in letzter Zeit zunehmend zielgerichtete Substanzen dazu beigetragen, für viele Patienten eine bessere Symptomkontrolle oder sogar einen Überlebensvorteil zu erreichen.

Bei allem Fortschritt ist jedoch unübersehbar, dass weiterhin zahlreiche ungelöste Probleme und Bedürfnisse bestehen. Eine besondere Herausforderung stellen Tumormanifestationen dar, die sich hinter bestimmten, anatomisch definierten Barrieren verbergen, da vielfach weder lokale noch systemische Therapieansätze langfristig erfolgreich sind. Hierzu zählen zum einen primäre und sekundäre Tumormanifestationen im zentralen Nervensystem, denen die intakte Blut-Hirn-Schranke einen „Schutz“ vor pharmakologischer Intervention gewährt. Tumormanifestationen an serösen Häuten, d.h. Pleura, Peritoneum oder Perikard gehen häufig mit maligner Ergussbildung einher und werden nur unzureichend von einer Therapie über das Gefäßsystem erreicht. Allen genannten Manifestationsformen maligner Erkrankungen gemeinsam ist eine durch die klinische Symptomatik bedingte deutliche Einschränkung der Lebensqualität sowie eine erheblich eingeschränkte Lebenserwartung der betroffenen Patienten.

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, dem Bedürfnis nach neuen Strategien für eine effektivere Behandlung der genannten anatomischen Nischen Rechnung zu tragen. So können bei der Behandlung von Tumoren des ZNS Substanzen mit nachgewiesener Fähigkeit zur Überwindung der Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke, wie z.B. Ifosfamid, eingesetzt werden. Dies wird im Rahmen dieser Arbeit anhand von prospektiven und retrospektiven Studien bei Lymphomen des ZNS sowie Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica von soliden Tumoren dargestellt. Hinsichtlich einer Lokalthherapie des Peritoneal- und Pleuraraum stellen bifunktionale trispezifische Antikörper eine neue, vielversprechende immunologische Therapieform dar, die in einem zweiten Schwerpunkt der Arbeit beschrieben wird.

## 2. Die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke

### 2.1 Aufbau und Funktion

Eine zuverlässige neuronale Signalübertragung setzt ein präzise reguliertes Mikroumfeld voraus. Daher ist das menschliche Gehirn bezüglich medikamentöser Therapie ein privilegierter und geschützter Raum. Die entscheidende Rolle dabei spielt die Blut-Hirn-Schranke (BHS), die neben einer anatomischen Barriere vor allem auch eine funktionelle Schnittstelle zwischen Hirnparenchym und Blutstrom darstellt.

Die **anatomische bzw. physikalische BHS** besteht aus kapillären Endothelzellen, die durch besonders effektive *tight-junctions* verbunden und von einer Basalmembran umgeben sind. Hieran schließen dicht die Fußfortsätze von Astrozyten an, die eine zelluläre Verbindung zu den Neuronen herstellen. Die meisten Moleküle können daher nur über einen transzellulären Weg in das Gehirn gelangen, was für kleinere, lipophile Substanzen mittels Membrandiffusion leichter möglich ist. Der Verkehr kleinerer hydrophiler Moleküle wird selektiv über spezifische Transportmechanismen reguliert. Große hydrophile Verbindungen wie Peptide oder Proteine sind von einem Transfer über die BHS generell ausgenommen, wenn sie nicht durch Rezeptor- oder Adsorption-vermittelte Transzytose befördert werden, was im Endothel der Hirngefäße eine geringe Rolle spielt (Abbott et al, 2006).

Die **funktionelle Barriere** wird durch eine Kombination aus extra- und intrazellulären Enzymen gebildet. So können durch extrazelluläre Peptidasen und Nucleotidasen Peptide oder ATP metabolisiert werden, während intrazelluläre Enzyme wie z.B. Cytochrom P450 zahlreiche neuroaktive und toxische Verbindungen inaktivieren (El-Bacha et al, 1999). Verschiedene Substanzen können die Funktion der BHS modifizieren, z.B. führen Entzündungsmediatoren zu einer verminderten endothelialen Schrankenfunktion (Abbott, 2000), während Kortikosteroide eine Festigung der physikalischen und funktionellen Barriere bewirken.

Die **Blut-Liquor-Schranke (BLS)** unterscheidet sich von der BHS durch eine 1000-fach größere Oberfläche. Auch die Epithelzellen des Plexus choroideus besitzen – ähnlich der BHS– Rezeptoren, Enzyme, Kanäle und Transportsysteme mittels derer die Zusammensetzung des Liquors eng reguliert werden kann (Spector et al, 1989). Dennoch beschränkt sich der Zugang von Substanzen aus dem Liquor auf das direkt anliegende Gehirnparenchym, während die BHS Kontakt mit dem gesamten interstitiellen Raum des ZNS hat (Pardridge, 1997). Es besteht zwar ein freier

Substanztausch zwischen Liquor und Hirninterstitium. Der ständige Liquorfluss, ausgehend von den Ventrikeln über den Subarachnoidalraum bis zur abschließenden Resorption in das Blut („*bulk flow*“), bedingt jedoch einen ständigen Konzentrationsgradienten zwischen extrazellulärer Flüssigkeit im Gehirn und Liquor. Dies führt zu einem kontinuierlichen Abfall der *steady-state* Konzentration von Molekülen in der interstitiellen Flüssigkeit (Davson, 1978). Der Nachweis einer Substanz bzw. eines Medikamentes im Liquor läßt daher nur teilweise auf das Eindringen, die Verteilung und Clearance von Medikamenten im Gehirnparenchym schließen.

## **2.2 Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke bei Tumoren des ZNS**

Im Bereich von primären oder sekundären Hirntumoren ist die BHS nicht vollständig intakt. Dies zeigt sich am besten anhand der Akkumulation von großmolekularem Kontrastmittel in der zerebralen Bildgebung. Bei größter Tumorausdehnung, das heißt vor Beginn einer Therapie, ist die Funktion der BHS am stärksten gestört, und eine weitgehend ungestörte Penetration von Medikamenten kann angenommen werden. Eine Störung der BHS im Bereich von Tumoren kann jedoch auch lokal begrenzt oder inhomogen verteilt vorkommen. Dies ist bedingt durch unterschiedliche strukturell-funktionelle Eigenschaften der durch Neovaskularisierung entstandenen Hirnkapillaren, etwa ein unterschiedlicher Fenestrierungsgrad oder intraendotheliale Lücken (Schlagetter et al, 1999). Die Inhomogenität der Schrankenstörung ist bei der Entwicklung von Therapiestrategien zu beachten, da idealerweise der gesamte Tumor gleichmäßig von der Therapie erfasst werden sollte.

## **2.3 ZNS-Gängigkeit von Zytostatika**

Bei einer wirksamen Behandlung maligner Erkrankungen des ZNS mittels systemischer Chemotherapie sollten ausreichende Zytostatika-Konzentrationen im Hirngewebe erzielt werden um Tumorareale mit wenig oder nicht gestörter BHS zu erreichen. Als Surrogat der Konzentration einer Substanz im Gehirn wird häufig ihre Konzentration im Liquor angeführt, auch wenn dies, wie oben beschrieben, nur teilweise die Verteilung im Hirnparenchym widerspiegeln kann. Für die Überwindung der BHS sind Molekulargewicht, Ladung, Lipophilie und Plasmaproteinbindung von Bedeutung (Abbott et al, 2006). Hinsichtlich der Pharmakokinetik bzw. Halbwertszeit eines therapeutisch wirksamen Medikamentenspiegels im ZNS spielen vor allem Efflux-Systeme eine wichtige Rolle. So sind zahlreiche Medikamente Substrate der

membranständigen Effluxpumpen *p-Glycoprotein* und *multiple resistance protein 1 (MRP1)* und werden auf diesem Weg rasch wieder gegen einen Konzentrationsgradienten aus dem ZNS ausgeschleust (Bart et al, 2000).

Für einige lipidlösliche Substanzen aus der Gruppe der Alkylanzien (Nitrosoharnstoffe, Temozolomid, Procarbazin, Thiotepa), der Antimetaboliten in eskalierter Dosierung (Cytarabin, Methotrexat) sowie für Topotecan sind therapeutische Konzentrationen im Hirngewebe belegt (Muldoon et al, 2007). Diese Substanzen sind zwar bei hämatologischen Grunderkrankungen gut wirksam, zählen jedoch nicht zur ersten Wahl in der Therapie solider Tumore. Die hier häufig bevorzugten Platinderivate und Taxane überqueren die BHS dagegen nicht. Für neue Substanzen, insbesondere die sog. *targeted drugs* ist die Datenlage sehr begrenzt, so dass weitere Untersuchungen dringend notwendig sind.

Grundsätzlich kann die ZNS-Gängigkeit von Medikamenten auch durch Modifikationen der Blut-Hirnschranke verbessert werden. Gegenstand intensiver Forschung ist unter anderem eine osmotische Öffnung der Blut-Hirnschranke durch intraarterielle Gabe eines hyperosmolaren Agens (Angelov et al, 2009; Muldoon et al, 2007). Auch Modulationen der Efflux-Pumpen könnten zu höheren intrazerebralen Medikamentenspiegeln führen (Bart et al, 2000).

### **2.3.2 Liquorpenetration von Ifosfamid und des aktiven Metaboliten 4-OH-Ifosfamid**

Aufgrund seiner Lipidlöslichkeit, eines geringen Molekulargewichts und minimaler Plasmaeiweißbindung wurde für Ifosfamid (IFO) eine Penetration der BHS angenommen. Pharmakokinetische Untersuchungen der Konzentration von IFO und seiner aktiven Metabolite im Liquor beschränkten sich in der Vergangenheit jedoch auf eine kleine Gruppe pädiatrischer Patienten sowie einige Rhesusaffen (Arndt et al, 1988; Yule et al, 1997; Kaijser et al, 1998). Eine bessere Basis für die auch im Rahmen dieser Arbeit untersuchten therapeutischen Interventionen mit IFO-haltigen systemischen Chemotherapieprotokollen sollte daher eine Studie zur Penetration von IFO und seines aktiven Metaboliten 4-OH-IFO in den Liquor erwachsener Tumorpatienten bilden.

Bei 12 erwachsenen Patienten mit primären oder sekundären ZNS-Lymphomen (n=9) sowie Mammakarzinom mit Meningeosis neoplastica (n=3), die mit IFO als 3-stündiger intravenöser Infusion von 1300 bis 2000mg/m<sup>2</sup>/d behandelt wurden,

konnten während verschiedener Therapiezyklen 10 Minuten nach Ende der Infusion insgesamt 17 Liquor- und parallele Plasmaproben gewonnen werden. Aus diesen wurden mittels Gaschromatographie bzw. *high-performance liquid chromatography* (HPLC) die Konzentrationen von IFO und 4-OH-IFO bestimmt und ein Quotient aus Liquor- und Plasmakonzentration gebildet. Bei 8 Patienten wurden ergänzend 4-5 sequentielle Liquorproben à 2ml gewonnen, um einen möglichen kaudokraniellen Konzentrationsgradienten zu erkennen.

IFO wurde mit einer medianen Liquor-/Plasma-Ratio von 0,38 (range, 0,18-0,72) in allen Proben detektiert. Der wirksame Metabolit 4-OH-IFO wurde in 11 von 17 (65%) Liquorproben von 8 Patienten mit einer sehr hohen medianen Ratio von 3,07 (range, 0,62-29,12) detektiert. Eine Korrelation zwischen Ratio und einer begleitenden Steroidmedikation oder dem Liquor-/Serum-Albuminquotienten fand sich nicht. Eine gute Penetration von IFO und 4-OH-IFO in den Liquor wurde demnach bestätigt, wobei sich die Messungen von 4-OH-IFO als deutlich unzuverlässiger erwiesen. Während Konzentrationen oberhalb des Plasmaniveaus durch eine längere Halbwertszeit von 4-OH-IFO im Liquor bedingt durch vermehrte Sulfhydryl-Bindungen der Verbindung im Plasma erklärt werden können, gibt es für die fehlende Detektion in einem Drittel der Liquor- und auch Plasmaproben keine plausible Erklärung. Die deutlichen interindividuell gemessenen Konzentrationsunterschiede von 4-OH-IFO könnten aber zu Unterschieden im Therapieansprechen beitragen.

Die Untersuchung von sequentiellen Liquorproben erlaubt – nach Ausschluss einer intrathekalen Immunglobulin G (IgG) Synthese – intraindividuelle Veränderungen des IgG-Index als Parameter einer gestörten Permeabilität der BLS für IgG/Albumin und intraindividuelle Veränderungen des Albuminquotienten als Parameter eines gestörten Liquorumsatzes (*bulk-flow*) auszuwerten. Bei der geringen Patientenzahl ergaben sich Hinweise, dass eine Permeabilitätsstörung der BLS für IgG/Albumin mit einer höheren Konzentration von IFO im Liquor korrelieren könnte. Ein Effekt des kaudal langsameren Liquorflusses auf die Konzentration von IFO zeigte sich hingegen bei kaudokranieller Konzentrationszunahme nicht, so dass offensichtlich Unabhängigkeit vom lokalen Liquor *turnover* besteht.

## **Publikation I**

Kiewe P\*, Neumann M\*, Wagner T, Seyfert S, Albrecht H, Thiel E, Korfel A

\*Equal contribution

**Penetration of ifosfamide and its active metabolite 4-OH-ifosfamide into cerebrospinal fluid of patients with CNS malignancies.**

Cancer Chemother Pharmacol. 2010 Feb 24.

### **3. Lymphome des zentralen Nervensystems**

#### **3.1 Definition**

Das primäre ZNS-Lymphom (PZNSL) ist eine seltene extranodale maligne Lymphomerkkrankung, die nach der WHO Klassifikation von 2008 als Subentität der diffusen großzelligen B-Zell Non-Hodgkin-Lymphome gewertet wird, wobei sehr selten auch niedrig-maligne oder T-Zell-Varianten vorkommen. Eine Besonderheit ist, dass die Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ausschließlich auf das ZNS begrenzt ist. Die geschützte Lage im ZNS –jenseits der BHS– bedingt zahlreiche Besonderheiten in Diagnostik und Therapie.

Von den PZNSL abzugrenzen sind sekundäre ZNS-Manifestationen systemischer NHL, die entweder bei Erstdiagnose diagnostiziert werden oder im Verlauf der Erkrankung auftreten. Die Häufigkeit eines ZNS-Befalls variiert erheblich mit der Histologie und Aggressivität der zugrunde liegenden Lymphomerkkrankung. Bei Durchführung einer wirksamen Lokalthherapie ist vor allem die Kontrolle der systemischen Erkrankung Prognose bestimmend.

#### **3.2 Therapie und Prognose**

Wie bei anderen aggressiven Lymphomen auch, ist die Lebenserwartung ohne Behandlung bzw. mit alleiniger Steroidtherapie meist auf wenige Monate begrenzt. Mit einer initialen Ganzhirnbestrahlung (whole-brain irradiation; WBRT) kann das mediane Überleben auf über ein Jahr verlängert werden (Nelson et al, 1992). Bessere Überlebenszeiten von über 30 Monaten lassen sich mit einer systemischen Chemotherapie auf der Basis von hochdosiertem Methotrexat (HDMTX) erreichen (Batchelor et al, 2006). Dennoch erleidet die Mehrheit der Patienten ein Rezidiv, welches in der überwiegenden Zahl der Fälle erneut isoliert im ZNS lokalisiert ist.

Verschiedene prognostische Faktoren, u.a. Alter, Allgemeinzustand (*Performance Status*), Lokalisation der Lymphommanifestation, meningealer Befall, Proteinkonzentration im Liquor, und LDH bei Erstdiagnose wurden beim PZNSL des immunkompetenten Patienten diskutiert (Blay et al, 1998; Ferreri et al, 2005). Basierend auf Alter und Allgemeinzustand wurde am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) ein Prognosescore etabliert, welcher Patienten in 3 prognostisch deutlich verschiedene Gruppen (Abrey et al, 2006). Nicht zu unterschätzen ist jedoch auch die Therapieerfahrung der behandelnden Einrichtung,

wie eine prospektive multizentrische Studie unserer Klinik zeigen konnte (Korfel et al, 2005).

Die optimale Therapie des PZNSL ist bislang unvollständig etabliert. Da grundsätzlich von einer Erkrankung des gesamten Gehirns auszugehen ist, stellt die reine Resektion keine Option dar. Auch mittels Bestrahlung, die stets als WBRT durchzuführen ist, ist die Überlebenszeit, wie oben dargestellt, begrenzt.

Von einer wirksamen Chemotherapie ist beim PZNSL vor allem eine ausreichende Überwindung der BHS zu fordern. Zwar ist die BHS im Bereich größerer Tumormassen gestört, grundsätzlich ist jedoch von einem Vorhandensein kleinerer Lymphominfiltrate in der Umgebung des *Bulks* oder versprengter Tumorzellinseln innerhalb einer intakten BHS auszugehen. Außerdem ist für das PZNSL bekannt, dass nach einem therapiebedingten Schrumpfen des Tumors die Funktion der BHS wiederhergestellt wird (Ott et al, 1991). Aus diesem Grund lässt sich mit den üblichen Therapieschemata für hochmaligne Lymphome, z.B. dem CHOP-Protokoll, zwar ein vorübergehendes Ansprechen, aber kein Überlebensvorteil im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie erreichen (Mead et al, 2000).

Als Standard gilt heute eine Therapie, welche Hochdosis-Methotrexat (HDMTX) beinhaltet, wobei aufgrund der nur partiellen ZNS-Gängigkeit von Methotrexat eine Dosierung oberhalb von  $1,5\text{g}/\text{m}^2$  gewählt werden sollte. Eine alleinige intrathekale Therapie ist aufgrund der unzureichenden Penetration von Zytostatika aus dem Liquor in das Gehirnparenchym sicher nicht ausreichend.

In kleinen mono- und oligozentrischen Phase II Studien wurden mit HDMTX als Monotherapie oder in Kombination mit anderen Substanzen sowie teilweise konsolidierender Strahlentherapie exzellente Ansprechraten und mediane Überlebenszeiten von 30-40 Monaten berichtet (Glass et al, 1994; Brada et al, 1998; O'Brian et al, 2000; DeAngelis et al, 2002; Korfel et al, 2005; Abrey et al, 2006; Ferreri et al, 2006; Gavrilovic et al, 2006). Letztlich konnten jedoch bislang weder die optimale Dosierung noch die optimalen Kombinationspartner etabliert werden. Eine Kombinationstherapie könnte der Monotherapie sowohl bzgl. Ansprechen als auch krankheitsfreiem Überleben überlegen sein, allerdings fehlen vergleichende Studien. Die bisher besten Langzeitergebnisse mit 5-Jahres-Überleben von 75% wurden im Rahmen einer oligozentrischen deutschen Studie mit einer intensiven Polychemotherapie und einer zusätzlichen intraventriculären Therapie (über Omayo-Reservoir) erreicht (Pels et al, 2003). Die Rolle der intraventriculären Therapie ist

aber noch unklar, da in einer Folgestudie mit lumbaler Applikation von liposomalem Cytarabin deutlich schlechtere Ergebnisse erzielt wurden (Pels et al, 2009). Da überwiegend ältere Patienten von PZNSL betroffen sind, muss auch auf die unter adäquaten Supportivmaßnahmen sehr gut verträgliche und wirksame HDMTX Monotherapie hingewiesen werden (Jahnke et al, 2005a).

Eine kombinierte Chemo-/Radiotherapie ist zwar hinsichtlich des Überlebens der alleinigen Strahlentherapie überlegen, weist jedoch eine deutlich erhöhte Rate an neurologischer Spättoxizität auf (bis 37%, bei älteren Patienten sogar mehr), die zu neurokognitiven Störungen bis zur Demenz führen kann. Hierbei ist insbesondere die Applikation einer Chemotherapie nach vorausgegangener Strahlentherapie ein Risikofaktor (Abrey et al, 1998; Blay et al, 1998). Der Stellenwert einer konsolidierenden Strahlentherapie nach HDMTX-haltiger Erstlinientherapie wurde im Rahmen einer randomisierten multizentrischen (Phase IV) Studie der deutschen Studiengruppe für ZNS-Lymphome mit über 500 Patienten untersucht. Hierbei zeigte sich für die mit Chemotherapie und konsolidierender WBRT behandelten Patienten im Vergleich zur alleinigen Chemotherapie kein Überlebensvorteil (Thiel et al, 2010). Für jüngere Patienten wurde auch das Konzept einer primären Hochdosis-Chemotherapie mit autologem Stammzellsupport überprüft, die Ergebnisse sind bislang allerdings widersprüchlich. Während eine deutsche Studie ein vielversprechendes 5-Jahres-Überleben von 69% zeigte, allerdings mit WBRT (Illerhaus et al, 2006), waren die Ergebnisse einer amerikanischen Studie enttäuschend (Abrey et al, 2003).

Auch im Rezidiv bzw. bei primär refraktärer Erkrankung ist die Durchführung einer Therapie möglich und sinnvoll, da häufig eine Verlängerung des Überlebens erreicht werden kann. Eine Standardtherapie ist allerdings nicht etabliert. Nach einer längeren Remissionsdauer nach HDMTX-haltiger Erstlinientherapie kann eine erneute Behandlung mit HDMTX durchgeführt werden, allerdings wegen des deutlich erhöhten Risikos neurotoxischer Komplikationen nicht, wenn zuvor bereits eine WBRT erfolgt ist. Nach alleiniger primärer Chemotherapie kann im Rezidiv die Strahlentherapie erfolgreich eingesetzt werden. Außerdem wurde für verschiedene Chemotherapien als Einzelsubstanzen und in der Kombination von einer Wirksamkeit berichtet (Herrlinger et al, 2000; Fischer et al, 2004). Für jüngere Patienten bzw. Patienten in gutem Allgemeinzustand kommt im Rezidiv analog zum Vorgehen bei aggressiven systemischen Lymphomen eine Hochdosistherapie mit autologer

Stammzelltransplantation in Frage, wobei hier bevorzugt Substanzen mit guter ZNS-Gängigkeit zum Einsatz kommen (Soussain et al, 2001).

Die Datenlage zur Therapie sekundärer Lymphommanifestationen im ZNS ist begrenzt. Eine systemische Therapie scheint dabei im Vergleich mit einer Lokaltherapie (WBRT und/oder intrathekale Chemotherapie) aufgrund der einheitlicheren Verteilung über die Neuroachse, der gleichzeitigen Behandlung der systemischen Lymphomerkkrankung und des Vermeidens einer wiederholten Behandlung des Liquorraumes von Vorteil (Blaney et al, 1996; van Besien et al, 1998; Bokstein et al, 2002). Einzig mittels einer Hochdosis-Chemotherapie mit autologem Stammzellsupport scheint allerdings die Induktion langfristiger Remissionen möglich zu sein (Alvarnas et al, 2000; Jahnke et al, 2006a).

### **3.2.1 Langzeitergebnisse im Zeitalter der Hochdosis-Methotrexat Therapie bei unselektionierten Patienten mit primärem ZNS-Lymphom**

Die oben beschriebenen, überwiegend in kleineren Phase II-Studien beobachteten, guten Langzeitergebnisse mit HDMTX-haltiger Chemotherapie mit oder ohne WBRT spiegeln sich bislang nicht in einem vergleichbaren Populations-basierten Überlebensvorteil anhand der Analysen von Tumorregistern wider (Panageas et al, 2005; Shenkier et al, 2005). Auch in retrospektiven Analysen einzelner Zentren (Herrlinger et al, 2001; Hodson et al, 2005) sowie einer multizentrischen Therapiestudie (Korfel et al, 2005) fanden sich deutlich schlechtere Überlebenszeiten. Es ist daher zu vermuten, dass die Ergebnisse vieler Phase II Studien bei PZNSL auf einem Selektionsbias hinsichtlich Alter, Allgemeinzustand und anderen etablierten prognostischen Faktoren basieren und daher auch Erfahrungen einzelner Zentren in der Behandlung von Patienten mit PZNSL von Bedeutung sind. Anhand eines unselektionierten Kollektivs, alle konsekutiven Patienten mit der Erstdiagnose PZNSL zwischen Januar 1994 und Februar 2005 an unserem Zentrum umfassend, sollte daher die Langzeitprognose von PZNSL Patienten im Zeitalter der HDMTX-Therapie untersucht und zuvor publizierte Prognosefaktoren validiert werden.

Es wurden insgesamt 72 Patienten identifiziert. Von diesen konnten 12 Patienten (17%) aufgrund ihres Allgemeinzustandes oder Begleiterkrankungen keine HDMTX-basierte Therapie bekommen. Von den verbleibenden 60 mit HDMTX behandelten Patienten erhielten 9 eine konsolidierende WBRT. Die Gesamtansprechrade der

Patienten mit HDMTX-Therapie betrug 65% (52% CR). Das mediane Überleben des gesamten Kollektivs betrug 41,4 Monate. Patienten mit einer initialen HDMTX-haltigen Therapie (n=60) überlebten im Median 42,5 Monate, Patienten mit WBRT allein (n=5) 8,8 Monate, Patienten mit alternativen Chemotherapie-Regimen (z.B. Topotecan oder Ifosfamid Monotherapie; n=4) 10,9 Monate und ausschließlich supportiv behandelte Patienten (n=3) 1,2 Monate. Die bekannten prognostischen Faktoren Alter und Therapieansprechen konnten reproduziert werden. Am besten geeignet, das Überleben der Patienten vorherzusagen, war der MSKCC Prognosescore (Abrey et al, 2006), so dass nun eine externe Validierung des Scores vorliegt.

Anhand von 8 Langzeitüberlebenden (>5 Jahre) zeigte sich, dass einzelne Patienten in besonderem Maß von einer Therapie profitieren bzw. auch nach Rezidiv noch durch eine Salvage-Therapie (Bestrahlung, konventionelle Chemotherapie oder Hochdosistherapie mit autologem Stammzellsupport) eine langfristige Remission erreichen können. So konnte das beobachtete, vergleichsweise kurze progressionsfreie Überleben aller Patienten mit initialem Ansprechen auf HDMTX von nur 9 Monaten offensichtlich durch eine effektive Salvage-Therapie einschl. WBRT kompensiert werden.

Bei Patienten mit längerem lymphomfreiem Überleben stellt die Entwicklung einer verzögerten Neurotoxizität eine besonders schwerwiegende Einschränkung der Lebensqualität dar. Dies wird unterstrichen durch eine Auswertung von 17 der 20 Patienten, die mehr als 20 Monate nach Diagnosestellung ohne Lymphomnachweis am Leben waren. Von diesen wiesen 14 radiologische Zeichen einer Neurotoxizität im MRT auf, bei 11 waren neurokognitive Defizite zu verzeichnen, und zwar vorwiegend bei denen, die eine vorangegangene WBRT erhalten hatten.

## **Publikation II**

Kiewe P, Fischer L, Martus P, Thiel E, Korfel A.

**Primary central nervous system lymphoma: monocenter, long-term, intent-to-treat analysis.**

Cancer. 2008;112:1812-20.

### **3.2.2 Kombinationstherapie mit Hochdosis-Methotrexat und Ifosfamid bei Lymphommanifestationen im ZNS**

Eine Kombinationschemotherapie ist die Standardtherapie bei aggressiven systemischen Non-Hodgkin Lymphomen. Es ist davon auszugehen, dass diese Erkenntnisse auf die Therapie primärer ZNS-Lymphome übertragbar sind, wobei bei diesem speziellen Patientengut eine Einschränkung angesichts der deutlich erhöhten Toxizität von Kombinationsprotokollen gegeben ist.

Bei der Wahl von geeigneten Kombinationspartnern spielen sowohl eine nachgewiesene Lymphomwirksamkeit als auch die Penetration in das ZNS eine wichtige Rolle. IFO ist eine Substanz, die diese Bedingungen erfüllt (siehe Publikation I). Allerdings liegen für IFO nur wenige Daten zur systemischen Therapie von ZNS-Lymphomen vor (Arellano-Rodrigo E et al, 2003; Pels H et al, 2003; Jahnke et al, 2005b). Anhand einer Kohorte von 20 überwiegend vorbehandelten und älteren Patienten (medianes Alter 65 Jahre) mit Lymphommanifestationen im ZNS (7 mit PZNSL und 13 mit sekundärem ZNS-Befall einschl. meningealem Befall) wurde eine Kombinationstherapie aus HDMTX ( $4\text{g/m}^2$ , d1) und IFO ( $1,5\text{-}2\text{g/m}^2$ , d3-5) hinsichtlich Effektivität und Toxizität untersucht. Es konnte eine sehr hohe Ansprechrate von 90% erreicht werden, davon 12 komplette und 6 partielle Remissionen. Die Patienten profitierten klinisch deutlich hinsichtlich der Zeit bis zur neurologischen Verschlechterung (im Median 8,9 Monate). Zwölf Patienten erhielten im Verlauf weitere Therapien. Nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 14,9 Monaten waren 13 Patienten noch am Leben, das mediane Gesamtüberleben noch nicht erreicht. Die am häufigsten beobachteten Toxizitäten waren Leukopenie (65%) und Thrombopenie (30%). Nierentoxizität (n=3) und eine reversible akute ZNS-Toxizität (n=1) traten deutlich seltener auf. Zwei Patienten verstarben unter der Behandlung an den Folgen der Neutropenie.

Diese retrospektive Studie zeigte eine hohe Effektivität einer Kombinationstherapie mit HDMTX und IFO insbesondere auch bei Patienten mit sekundären ZNS-Manifestationen und meningealem Befall. Zwar schränkt die deutliche Hämatotoxizität ihren Einsatz etwas ein, unter prophylaktischer Gabe von G-CSF erscheint aber eine Weiterentwicklung des Protokolls in prospektiven Therapiestudien gerechtfertigt.

## **Publikation III**

Fischer L, Korfel A, Kiewe P, Neumann M, Jahnke K, Thiel E

**Systemic high-dose methotrexate plus ifosfamide is highly effective for central nervous system (CNS) involvement of lymphoma**

Ann Hematol 2009;88:133-13

### **3.2.3 Therapie mit <sup>90</sup>Yttrium-Ibritumomab tiuxetan bei rezidierten ZNS-Lymphomen und Darstellung der ZNS-Gängigkeit mit <sup>111</sup>Indium-Ibritumomab tiuxetan**

Trotz der hohen Rate an Remissionen mit einer HDMTX-haltigen Initialtherapie sind bis zu 15% der Patienten primär refraktär und bis zu 60% erleiden ein Rezidiv, häufig in den ersten 1-2 Jahren. Unbehandelt ist die Prognose refraktärer oder rezidivierter PZNSL sehr schlecht (Reni et al, 2001a). Ein Standardvorgehen ist für diese Patienten jedoch nicht etabliert (vgl. Kap. 3.2).

Eine gegen das CD20-Antigen gerichtete Antikörpertherapie hat die therapeutischen Optionen bei B-Zell-Lymphomen erweitert und die Prognose teilweise erheblich verbessert. Wie jedoch bereits zuvor ausgeführt, dürfte die Wirksamkeit derartiger Makromoleküle beim PZNSL zumindest nach Rekonstitution der BHS begrenzt sein. Mit dem 90-Yttrium (<sup>90</sup>Y-) markierten anti-CD20 Antikörper Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) steht jedoch eine gut verträgliche Substanz zur Verfügung, die sogar mit einem einzigen Therapiezyklus wirksam gegen Lymphome ist, die auf Chemotherapie und auch Rituximab refraktär sind. Im Rahmen der initial durchlässigen BHS beim PZNSL könnte demnach eine ausreichende Menge des Antikörpers im Tumor akkumulieren und seine Strahlenwirkung entfalten. Diese Hypothese sollte in einer prospektiven Phase II-Studie bei rezidierten PZNSL überprüft werden.

Von 10 in die Studie eingeschlossenen, vielfach vorbehandelten Patienten erhielten 9 die geplante Therapie mit <sup>90</sup>Y-Ibritumomab tiuxetan. Bei 6 Patienten wurde zuvor die Biodistribution des Antikörpers mittels Gabe von <sup>111</sup>Indium gekoppeltem Ibritumomab tiuxetan und nachfolgenden *single-photon-emission* CT (SPECT) Aufnahmen bestimmt.

Vier Patienten sprachen auf die Therapie an, zwei mit kompletter und zwei mit partieller Remission. Ein Patient mit CR war nach über 30 Monaten rezidivfrei. Bei den übrigen 3 Respondern war nur ein sehr kurzes Ansprechen von ≤ 4 Wochen zu verzeichnen, wobei ein Progress bzw. Rezidiv häufig entfernt vom ursprünglichen Zielbereich auftrat. Interessanterweise zeigte sich bei 4 der mit SPECT untersuchten Patienten eine Akkumulation des Antikörpers im Zielbereich, der in sequentiellen Aufnahmen über einen Zeitraum von 7 Tagen an Intensität noch zunahm. Es konnte allerdings, wie auch bei anderen Lymphomen beschrieben, kein Zusammenhang

zwischen einer hohen Tracer-Aufnahme und einem Therapieansprechen hergestellt werden. Alle Patienten wiesen wie erwartet eine höhergradige Hämatotoxizität auf, eine strahlenbedingte Neurotoxizität wurde jedoch in einem mittleren Beobachtungszeitraum von 8 Wochen nicht beobachtet.

Die Studie konnte also die Hypothese einer bei durchbrochener BHS wirksamen Antikörpertherapie belegen. Die Beobachtung, dass die Rezidivherde häufig an anderer Stelle auftraten, lässt vermuten, dass kleine Lymphomzellen innerhalb einer intakten BHS nicht vom Antikörper erreicht wurden. Aufgrund der geringen Remissionsdauer scheint für künftige Strategien eine Kombination mit Chemotherapie sinnvoller.

## **Publikation IV**

Maza S\*, Kiewe P\*, Munz DL, Korfel A, Hamm B, Jahnke K, Thiel E.

\*Equal contribution

**First report on a prospective trial with yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan (Zevalin™) in primary CNS lymphoma.**

Neuro Oncol 2009;11:423-9.

### **3.2.4 Meningeale Beteiligung beim primären ZNS-Lymphom**

Zur Bedeutung einer meningealen Beteiligung beim PZNSL liegen nur wenige und zum Teil widersprüchliche Daten vor. Die Häufigkeit wird bei konventioneller zytomorphologischer Diagnostik mit 7-42% sehr unterschiedlich angegeben (Balmaceda et al, 1995; Blay et al, 1998; O'Brian et al, 2000; Batchelor et al, 2003; Ferreri et al, 2003; Pels et al, 2003; Abrey et al, 2006), eine ungünstige prognostische Bedeutung fand sich nur in einer Studie (Blay et al, 1998). Insgesamt ist die Zytomorphologie jedoch sowohl hinsichtlich falsch-positiver als auch falsch-negativer Befund sehr störanfällig. Vor dem Hintergrund einer geringen Evidenz gilt eine systemische HDMTX-haltige Therapie bei PZNSL auch bei Nachweis von Lymphomzellen im Liquor als ausreichend, da mit intravenöser Gabe von HDMTX ausreichende Spiegel im Liquor erreicht werden (Glantz et al, 1998). Für den Nutzen einer zusätzlichen lokalen Behandlung des Liquorraumes bei PZNSL unabhängig von einem meningealen Befall liegen widersprüchliche Studienergebnisse vor (siehe Kap 3.2).

Mittels einer retrospektiven Auswertung aller PZNSL Patienten unseres Zentrums sollte die Inzidenz eines meningealen Befalls anhand einer erweiterten modernen Diagnostik einschließlich Immunphänotypisierung und molekulargenetischem Klonalitätsnachweis bestimmt werden. Weiterhin wurde das therapeutische Management und die Relevanz eines meningealen Befalls auf das Überleben untersucht.

69 immunkompetente Patienten mit neudiagnostiziertem PZNSL und Liquordiagnostik wurden identifiziert, von diesen hatten 11% (7/63) einen meningealen Befall in der konventionellen Zytomorphologie, weitere 6% wiesen suspekta Lymphozyten auf. Von 37 mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) der CDR3-Region untersuchten Patienten fand sich bei 16% ein monoklonales Muster. Nur eine einzige von 32 mit Immunphänotypisierung untersuchten Liquorproben war positiv, 4% der Patienten wiesen ein meningeales Enhancement im MRT auf. Alle Methoden zusammengenommen wurde ein meningealer Befall bei 16% der Patienten diagnostiziert.

Weder das mediane Gesamtüberleben noch das ereignisfreie Überleben (EFS) unterschied sich signifikant zwischen den Patienten mit meningealem Befall und denen ohne (OAS 45,5 Monate vs. 42,5 Monate;  $p=0,34$  und EFS 26 Monate vs. 26 Monate;  $p=0,24$ ). Betrachtet man allerdings nur die Patienten mit

zytomorphologischem Nachweis eines meningealen Befalls, so hatten diese Patienten sowohl ein kürzeres OAS (18,5 Monate vs. 45 Monate;  $p=0,017$ ) als auch EFS (15,4 Monate vs. 34,3 Monate;  $p=0,018$ ). Dies könnte auf eine größere prognostische Bedeutung einer konventionellen Diagnostik, mit der möglicherweise eine höhere Tumorlast detektiert wird, hinweisen. Die zuvor als unabhängiger ungünstiger prognostischer Faktor beschriebene Proteinerhöhung im Liquor war in dieser Untersuchung ohne Bedeutung.

Mit der Einschränkung einiger methodischer Limitationen bzgl. Patientenzahl und -selektion konnte die diagnostische Ausbeute hinsichtlich eines meningealen Befalls durch Immunzytologie und Bildgebung im Vergleich mit der Zytomorphologie nicht gesteigert werden, der Wert der molekulargenetischen Analytik bleibt unklar. Somit ist die Zytomorphologie weiterhin als Goldstandard der Diagnostik anzusehen. Trotz der ungünstigeren Prognose ist eine systemische, HDMTX-basierte Chemotherapie auch bei meningealem Befall wirksam. Von 7 Patienten mit zytomorphologischem Lymphomnachweis im Liquor erhielten 3 eine zusätzliche intrathekale Therapie, entweder als Teil der Initialtherapie oder im Rezidiv. Ob eine zusätzliche intrathekale Therapie bei diesem Patientengut einen Nutzen bringt, bleibt aufgrund der Seltenheit eines meningealen Befalls weiter ungeklärt.

## **Publikation V**

Kiewe P, Fischer L, Martus P, Thiel E, Korfel A.

**Meningeal dissemination in primary CNS lymphoma: Diagnosis, treatment and survival in a large monocenter cohort.**

Neuro Oncol 2010;12:409-17.

## **4. ZNS Manifestationen solider Tumore**

### **4.1 Hirnmetastasen**

Symptomatische Hirnmetastasen treten bei 8-10% aller erwachsenen Krebspatienten auf, am häufigsten bei Bronchialkarzinomen, Mammakarzinomen und malignem Melanom (Barnholtz-Sloan et al, 2004). Ohne Behandlung liegt die Lebenserwartung der betroffenen Patienten bei wenigen Wochen (Lagerwaard et al, 1999), mit einer WBRT verlängert sich das mittlere Überleben auf einige Monate (Weller et al, 2003; Eichler et al, 2007). Bei selektionierten Patienten mit resektablen Hirnmetastasen kann durch eine multimodale Therapie mit Operation und nachfolgender WBRT ein verlängertes Überleben  $\geq 12$  Monate erreicht werden (Patchell et al, 1990; Vecht et al, 1993; Bindal et al, 1993). Auch eine stereotaktische Bestrahlung kann alleine oder ergänzend zur WBRT mit gewissem Erfolg eingesetzt werden (Smith ML et al, 2007). In einigen Studien wurde über eine Verbesserung der Remissionsraten oder des neurologischen Ansprechens bei Kombination von WBRT mit systemischer Chemotherapie, vor allem Temozolomid, berichtet (Antonadou et al, 2002; Verger et al, 2005). Dieses Vorgehen führt jedoch auch zu einer verstärkten Toxizität und bleibt bisher ohne Nachweis eines Überlebensvorteils.

Neben der Therapiemodalität haben sich Alter und Allgemeinzustand der Patienten, Anzahl der Hirnmetastasen sowie Ausdehnung und Kontrolle von extrazerebralen Tumormanifestationen als prognostisch bedeutsam erwiesen, allerdings jeweils abhängig von der Herkunft des Primärtumors (Lagerwaard, et al, 1999; Sperduto et al, 2010).

### **4.2 Meningeosis neoplastica**

Eine Meningeosis neoplastica manifestiert sich bei maximal 5% aller soliden Tumorerkrankungen mit einer häufigeren Inzidenz bei hämatologischen Neoplasien. Unter den soliden Tumoren sind, ähnlich wie bei Hirnmetastasen, Bronchialkarzinome, Mammakarzinome und das maligne Melanom die häufigsten Verursacher einer Meningeosis neoplastica (Wasserstrom et al, 1982; Chamberlain, 2008).

Die Prognose einer Meningeosis neoplastica ist mit einem medianen Überleben von gewöhnlich nur wenigen Wochen besonders schlecht (Wasserstrom et al, 1982). Durch gezielte Bestrahlung symptomatischer meningealer Bulk-Tumoren sowie die

intrathekale Chemotherapie kann zwar ein klinischer Benefit erreicht werden, üblicherweise jedoch ohne Auswirkungen auf das Überleben (Chamberlain, 2008).

### **4.3 Systemische Therapie bei ZNS-Metastasierung**

Die Effektivität einer systemischen Chemotherapie bei Patienten mit ZNS-Manifestationen wird limitiert durch primäre oder sekundäre Resistenzen, einen häufig schlechten Allgemeinzustand der Patienten sowie Begleiterkrankungen (Eichler et al, 2007). Weiterhin wird angenommen, dass die BHS den Medikamententransport in das ZNS behindert. Die Bedeutung der BHS für den Therapieerfolg einer systemischen Chemotherapie bei soliden Tumorerkrankungen wird aber insgesamt kontrovers beurteilt (Gerstner et al, 2007).

Ein theoretischer Vorteil der systemischen Chemotherapie, verglichen mit WBRT, operativer Resektion oder intrathekaler Therapie ist eine gleichmäßigere Verteilung der Wirksamkeit innerhalb des Gehirns und der Neuroachse, die gleichzeitige Behandlung von extrazerebralen Krankheitsmanifestationen und möglicherweise die Reduktion von verzögerter Neurotoxizität bzw. neurologischen Ausfällen. Eine optimale systemische Behandlung sollte wirksam gegen den Primärtumor sein und gleichzeitig in das Hirngewebe bzw. den Liquor eindringen um Tumormanifestationen zu erreichen, die sich hinter einer intakten BHS verbergen. Letzteres ist aber für Platinverbindungen und Taxane– die wirksamsten Substanzen in der Therapie von Bronchial- und Mammakarzinomen– nicht gegeben.

Ungeachtet dieser theoretischen Erwägungen können bei nicht vorbehandelten Patienten mit Hirnmetasen von NSCLC mit platinhaltigen Kombinationstherapien Ansprechraten zwischen 28%-45% erreicht werden, ähnliches gilt auch für die Therapie unvorbehandelter Hirnmetastasen des Mammakarzinoms mit beispielsweise 5-FU-haltiger Therapie, Capecitabine oder auch HDMTX (Lassmann et al, 2006; Eichler et al, 2007). So könnte die primäre systemische Chemotherapie mit Verschiebung der WBRT auf einen späteren Zeitpunkt zumindest bei asymptomatischen Hirnmetastasen auch hinsichtlich der Kontrolle extrakranieller Tumormanifestationen Vorteile bieten.

Die wenigen publizierten Ergebnisse mit systemischer Chemotherapie in der Rezidivsituation sind wesentlich ungünstiger. Temozolomid, ein Derivat des lange etablierten Alkylanz Dacarbazin, erfüllt die Voraussetzung einer Penetration der BHS und wurde in einigen Studien zur systemischen Therapie von Hirnmetastasen sowohl bei Mammakarzinomen als auch NSCLC eingesetzt. Die erzielten Ansprechraten

waren jedoch äußerst bescheiden, so dass offensichtlich eine Überwindung der BHS alleine keine Erfolgsstrategie darstellt (Abrey et al, 2001; Christodoulou et al, 2001; Dziadziuszko et al, 2003; Agarwala et al, 2004).

Für die Therapie der Meningeosis neoplastica konnte retrospektiv weder ein Vorteil noch ein Nachteil einer Strategie mit alleiniger systemischer Chemotherapie, verglichen mit einer Therapie, die eine intrathekale Zytostatikagabe beinhaltete, nachgewiesen werden (Bokstein et al, 1998). Ein retrospektiver Vergleich einer kleinen Kohorte von 16 Patienten mit Meningeosis neoplastica, die mit ausschließlich mit HDMTX behandelt wurden, zeigte im Vergleich mit einer Gruppe von 15 Patienten mit ausschließlicher intrathekaler Therapie ein besseres Ansprechen und Überleben. Allerdings hatten 50% der systemisch behandelten Patienten und 33% der intrathekal therapierten Patienten ein Lymphom als Grunderkrankung (Glantz et al, 1998).

Insgesamt ist die Datenlage bezüglich systemischer Chemotherapie von Hirnmetastasen und vor allem der Meningeosis neoplastica limitiert.

#### **4.3.1 Chemotherapie mit Topotecan und Ifosfamid bei Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica solider Tumore**

Sowohl Topotecan (TOPO) als auch IFO erreichen hohe Wirkspiegel im ZNS (Baker et al, 1996; Herben et al, 1996; Publikation I). Beide Substanzen sind gegen zahlreiche Karzinomentitäten wirksam, zudem wurde ein Synergismus zwischen Alkylanzien und Topoisomerase-1-Inhibitoren postuliert (Murren et al, 1997). Eine Effektivität von TOPO in der Behandlung von Hirnmetastasen konnte bereits gezeigt werden (Oberhoff et al, 2001; Korfel et al, 2002; Wong et al, 2004). Für eine Kombinationstherapie mit IFO konnten in klinischen Phase I Studien kumulative Dosen für TOPO von 3-5mg/m<sup>2</sup> pro Zyklus und für IFO von 3-4,5g/m<sup>2</sup> pro Zyklus als tolerabel etabliert werden. Eine pharmakokinetische Interaktion wurde nicht beobachtet.

Auf dieser Basis verwendeten wir das TOPO/IFO Kombinationsprotokoll (TOPO 1,2mg/m<sup>2</sup>, d1-3 und IFO 1,5g/m<sup>2</sup>, d1-2) in unserem Zentrum von 2004 bis 2009 als Standardbehandlung für Patienten mit ZNS-Metastasierung einer chemosensitiven soliden Tumorerkrankung und Rezidiv oder Progress nach WBRT, bei denen eine HDMTX-haltige Therapie vorausgegangen oder kontraindiziert war.

Mit der Kombinationstherapie behandelt wurden insgesamt 14 Patienten mit ZNS-Metastasierung (7 Patienten mit Hirnmetastasen, 2 mit Meningeosis neoplastica, und 5 mit beidem) auf dem Boden einer Karzinomerkrankung (7 Patienten mit Mammakarzinom, 6 mit Bronchialkarzinom und ein Patient mit *carcinoma of unknown primary*). Elf Patienten waren teilweise intensiv vorbehandelt einschl. WBRT. Insgesamt 34 Therapiezyklen (im Median 2 pro Patient) wurden verabreicht. Die radiologische Ansprechrate war mit einer partiellen Remission und 3 Krankheitsstabilisierungen niedrig. Zusätzlich erreichten 2 Patienten mit Meningeosis neoplastica eine zytologische Remission. Bei 6 von 12 auswertbaren Patienten wurde eine neurologische Besserung oder zumindest Stabilisierung erreicht. Ein radiologisches Ansprechen von extrazerebralen Krankheitsmanifestationen wurde, soweit untersucht, bei keinem Patienten beobachtet. Die mediane Zeit bis zur Progression betrug 43 Tage und das mediane Gesamtüberleben 107 Tage, was im Rahmen zuvor publizierter Daten in ähnlichen Patientenkollektiven liegt (Eichler et al, 2007; Korfel et al, 2002). Einige wenige Patienten wiesen ein deutlich längeres Überleben (bis über 3 Jahre) auf. Die Durchführbarkeit der Therapie war durch eine schwere Hämatotoxizität bei den meisten Patienten mit Auftreten von Infektionen und mindestens einem therapieassoziierten Todesfall deutlich eingeschränkt.

Diese Daten untermauern, dass die Chemotherapieresistenz der zugrunde liegenden Tumorerkrankung mehr als die BHS das eigentliche therapeutische Problem bei der Therapie von ZNS-Manifestationen solider Tumore darstellen. Für einige wenige Patienten, etwa mit Mammakarzinomen und Meningeosis neoplastica, könnte die untersuchte Kombinationstherapie dennoch einen klinischen Vorteil erbringen. Die Identifikation dieser Patienten ist jedoch schwierig, und die Toxizität des Protokolls rechtfertigt keinen routinemäßigen Einsatz.

## Publikation VI

Kiewe P, Thiel E, Reinwald M, Korfel A

**Topotecan and ifosfamide systemic chemotherapy for CNS involvement of solid tumors.**

J Neurooncol 2010, Oct 13 [epub ahead of print]

## 5. Maligne Ergüsse

Maligne Ergüsse sind zumeist Zeichen eines Tumorbefalls der serösen Häute des Peritoneums oder der Pleura und weisen häufig auf eine weit fortgeschrittene Tumorerkrankung mit entsprechender Einschränkung der Lebensqualität hin.

Der maligne Aszites ist eine zunehmende abnorme Akkumulation von Peritonealflüssigkeit, üblicherweise infolge einer Peritonealkarzinose durch intraabdominelle Malignome. Es folgt eine Störung des Gleichgewichts zwischen Transsudation durch das Plattenepithel und die Resorption über Stomata (offene Lymphkanalenden) der Serosa des Peritoneums. Während auf der einen Seite die Kapillaroberfläche und Kapillarpermeabilität durch den Einfluss von Wachstumsfaktoren (z.B. VEGF) zunimmt und durch intraperitoneale Proteinansammlung zu einer Zunahme der kapillären Transsudation führt, bedingt auf der anderen Seite eine lymphatische Obstruktion durch Tumorzellen eine verringerte Rückresorption von Flüssigkeit aus der Peritonealhöhle (Tamsma et al, 2001). Die Patienten leiden neben den durch eine Peritonealkarzinose bedingten Symptomen vor allem unter dem abdominellen Druck, der bei Kompression des Zwerchfells auch zur Dyspnoe führen kann und eine häufige Entlastung notwendig macht.

Das Ovarialkarzinom ist die häufigste zugrunde liegende Tumorentität, die für 30-50% aller Fälle verantwortlich ist (Hird et al, 1989; Ringenberg et al, 1989). Daneben findet sich maligner Aszites auch bei Magenkarzinomen, Kolorektalkarzinomen, Pankreaskarzinomen, Bronchialkarzinomen und Lymphomerkrankungen (Parsons et al, 1996). Die Prognose des malignen Aszites ist insgesamt schlecht und wird hauptsächlich durch die zugrunde liegende Tumorerkrankung bestimmt, wobei Patientinnen mit malignem Aszites infolge eines Ovarialkarzinoms die längste Lebenserwartung aufweisen (Garrison et al, 1996; Parsons et al, 1996).

Therapeutische Interventionen beim malignen Aszites beschränken sich zunächst auf wiederholte Parazentese, wobei auch eine permanente Katheterableitung möglich ist. Die Anlage von peritoneo-venösen Shuntsystemen hat sich trotz in Studien belegter hoher Erfolgsraten aufgrund der häufigen Komplikationen –insbesondere Shuntverschlüssen– nicht durchgesetzt. Eine diuretische Therapie ist aufgrund des zugrunde liegenden Pathomechanismus nur bei Aszites infolge portaler Hypertension bei ausgedehnter Lebermetastasierung erfolgreich. Mittels intraperitonealer Chemotherapie, z.B. mit Cisplatin, Gemcitabine oder Mitoxantrone wurde in kleineren

Fallserien eine Reduktion von Aszites erreicht, so dass eine solche Therapie im Einzelfall erwogen werden kann. Randomisierte Studien, die einen Vorteil einer intraperitonealen Applikation sichern würden, existieren jedoch nicht (Kiewe et al, 2010a). Bei chemosensitiven Tumorerkrankungen sollte zunächst eine systemische Chemotherapie entsprechend dem Standard bei der zugrunde liegenden Erkrankung durchgeführt werden, was jedoch häufig durch den bereits eingeschränkten Allgemeinzustand limitiert ist. Aussagekräftige Studienergebnisse zur Therapie speziell des malignen Aszites mit systemischer Chemotherapie liegen nicht vor.

Die Pathogenese des malignen Pleuraergusses ähnelt der des Aszites und entsteht auf dem Boden einer Karzinose der Pleura mit resultierender erhöhter kapillärer Permeabilität, Akkumulation von Proteinen im Pleuraraum und Verstopfung der lymphatischen Abflusswege (Putnam, 2002). Entsprechend der Lokalisation oberhalb des Zwerchfells sind am häufigsten Bronchialkarzinome (bis zu 37% der Fälle) und Mammakarzinome (bis zu 17%), aber auch Lymphome und Karzinome unklarer Herkunft ursächlich (Johnston, 1985). Abhängig von Ausmaß und Geschwindigkeit der Entwicklung manifestiert sich der maligne Pleuraerguss klinisch üblicherweise mit Luftnot, Husten oder pleuritischen Beschwerden. Die Prognose ist mit einem medianen Überleben von 3 Monaten, abhängig von zugrunde liegender Tumorerkrankung und Allgemeinzustand sehr schlecht (Burrows et al, 2000; Dresler et al, 2005; Tan et al, 2006).

Therapeutisch steht zunächst die symptomatische Entlastung des Ergusses durch Punktion, ggf. mittels Anlage einer Drainage im Vordergrund. Anders als bei der Therapie des malignen Aszites besteht mit der Pleurodese eine wirksame Option, den Pleuraraum durch Sklerosierung der beiden Pleurablätter (z.B. mit Talkum) zu veröden (Dresler et al, 2005), der beobachtete Effekt beruht allerdings nicht auf einem direkten anti-Tumor-Effekt (Antony et al, 2004).

Der Erfolg einer systemischen Therapie hängt wiederum von einer noch vorhandenen Chemosensitivität der zugrunde liegenden Tumorerkrankung ab, wobei eine Remission von extrapleuralem Manifestationen nicht notwendigerweise mit einer Reduktion des Ergusses korreliert.

### **5.1 Therapie mit trifunktionalen Antikörpern**

Bispezifische Antikörper verfügen über zwei verschiedene Bindungsarme, deren Antigen-bindende Fragmente (Fab) sowohl spezifische Oberflächenantigene auf

Tumorzellen als auch T-Zellen über das CD3-Epitop binden. Trifunktionale Antikörper sind eine neue Klasse von bispezifischen Antikörpern, die aus zwei immunologisch potenten und evolutionär verwandten Subklassen, IgG2a der Maus und IgG2b der Ratte, bestehen und eine bevorzugte Bindung an aktivierende FcγRI/IIa/III-Rezeptoren aufweisen (Lindhofer et al, 1995; Zeidler et al, 2000). Dadurch werden neben der simultanen Bindung der zwei verschiedenen Fab-Fragmente an Tumorzellantigene und T-Zellen gleichzeitig auch Fcγ-Rezeptor positive akzessorische Zellen (Makrophagen, NK-Zellen) aktiviert. Dies führt zur Formation eines „Tri-Zell-Komplexes“, der eine komplexe immunologische Reaktion mit interzellulärer „Kommunikation“ zwischen T-Zellen und akzessorischen Zellen, Freisetzung von Zytokinen und Expression von kostimulatorischen Rezeptoren auslöst. Das Ergebnis ist eine Eliminierung von Tumorzellen auf verschiedenen immunologischen Ebenen (Zeidler et al, 1999; Riesenberg et al, 2001). Darüberhinaus könnte durch die Beteiligung von Antigen-präsentierenden Zellen ein immunologisches Gedächtnis induziert werden mit dauerhafter humoraler und T-Zell vermittelter Immunantwort gegen das Zielantigen sowie möglicherweise weiterer Tumor-assoziierte Antigene (Ruf et al, 2001).

Catumaxomab ist ein trifunktionaler Antikörper mit Spezifität für EpCAM und das T-Zell Antigen CD3 (Sebastian et al, 2009). EpCAM ist ein membranständiges Adhäsionsmolekül, welches von der Mehrzahl der epithelialen Tumore (Karzinome) exprimiert wird (Went et al, 2004) und daher ein gutes Target für eine gerichtete Antitumorthherapie durch Antikörper bietet. Da Mesothelzellen kein EpCAM exprimieren, scheint der Antikörper besonders für eine intraperitoneale oder intrapleurale Gabe geeignet. Neben einer Phase I-Studie zur i.v.-Gabe des Antikörpers, in der sich eine reversible Leberwerterhöhung als dosislimitierende Toxizität zeigte (Sebastian et al, 2007), wurde der Antikörper daher überwiegend zur Therapie der Peritonealkarzinose und des malignen Aszites weiterentwickelt (Heiss et al, 2005; Burges et al, 2007). Aufgrund einer positiven Phase II/III Zulassungsstudie, in der Catumaxomab eine deutliche Verlängerung des punktionsfreien Überlebens (46 Tage vs. 11 Tage;  $p < 0,0001$ ) im Vergleich zu einer alleinigen Parazentese zeigte (Heiss et al, 2010), wurde der Antikörper zur intraperitonealen Therapie des malignen Aszites bei EpCAM-positiven Karzinomen zugelassen, für die keine Standardtherapie zur Verfügung steht. Aufgrund der ausgeprägten Immunreaktion im Sinne eines *cytokine-release-syndroms* ist bei der

Durchführung der Therapie allerdings einige Vorsicht geboten. Eine weitere Limitation ist die Bildung von potentiell neutralisierenden anti-Maus- und anti-Ratte-Antikörpern (HAMA/HARA), die einer möglichen Wiederholung der Therapie entgegenstehen.

Eine weitere Entwicklung aus der Gruppe der trifunktionalen Antikörper ist Ertumaxomab mit Spezifität gegen HER2/neu und CD3. Ein potentielles Einsatzfeld ist daher ein Teil der Mammakarzinome mit HER2/neu Überexpression und neuerdings auch ein Teil der Magenkarzinome einschl. der Adenokarzinome des gastroösophagealen Übergangs. Nach erfolgreichen präklinischen Untersuchungen wurde der Antikörper zur intraperitonealen Behandlung einiger Patienten mit malignem Aszites eingesetzt und zeigte hier eine Reduktion oder Elimination der HER2/neu positiven Tumorzellen im Aszites sowie auch ein klinisches Ansprechen (Heiss et al, 2005; Kiewe et al, 2008). Weiterhin wurde eine Phase I Studie mit systemischer Therapie bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom durchgeführt, die im Folgenden näher beschrieben wird (Publikation X).

### **5.1.1 Therapie des malignen Pleuraergusses mit dem anti-EpCAM x anti-CD3 Antikörper Catumaxomab**

Da wie oben ausgeführt keine spezifische anti-Tumor-Therapie bei Vorliegen eines malignen Pleuraergusses besteht und deutliche Parallelen zwischen pleuralem und peritonealem Kompartiment bestehen, sollte in einer multizentrischen Phase I/II Studie die Verträglichkeit und Effektivität einer dreimaligen intrapleuralem Applikation des trifunktionalen Antikörpers Catumaxomab innerhalb einer Woche in aufsteigender Dosierung überprüft werden.

Insgesamt wurden 24 Patienten in 3 Dosisgruppen behandelt. Die meisten Patienten wiesen als Grunderkrankung ein Mammakarzinom auf (n=11), gefolgt von NSCLC (n=6), Magenkarzinomen (n=3), CUP (n=2) und je einem Ösophagus- und Ovariakarzinom. 50% der Patienten wiesen bereits einen deutlich eingeschränkten Allgemeinzustand (ECOG 2) auf. Die häufigsten Nebenwirkungen waren Fieber, erhöhte Leberwerte, Übelkeit, Hautausschläge und eine transiente Lymphopenie. Bei zwei Patienten (je ein Patient in Dosisgruppe II und III) wurde eine Dosis-limitierende Toxizität festgestellt – ein Patient erlitt ein Pleuraempyem mit tödlicher Sepsis, ein weiterer Patient erlitt eine Lungenembolie mit Pneumonie.

Rund 50% der Patienten erhielten alle 3 geplanten Infusionen und nur 7 Patienten beendeten die Studie zum vorgesehenen Zeitpunkt, 60 Tage nach Beginn der Therapie. Bei 11 Patienten erfolgte ein Studienausschluss während der Therapiephase aufgrund von Toxizität oder Progression extrapleuraler Tumormanifestationen, bei weiteren 6 Patienten während der *follow-up* Phase.

Von den 7 hinsichtlich Effektivität nach Kriterien der *American Thoracic Society* auswertbaren Patienten sprachen 5 Patienten mit Mammakarzinom auf die Therapie an: Ein Patient erreichte eine CR ohne Nachweis von Resterguss und 4 Patienten eine PR mit >50% Reduktion des Ergusses, Besserung der Dyspnoe und keiner weiteren Punktionsbedürftigkeit. Bei 16 Patienten wurde vor der zweiten Antikörperinstillation eine pharmakodynamische Untersuchung hinsichtlich Zahl der EpCAM-positiven Zellen im Erguss im Vergleich zu einer Probenentnahme vor Therapiebeginn durchgeführt. Eine deutliche Reduktion EpCAM-positiver Zellen zeigte sich dabei bei 14 dieser Patienten, was nach Abschluss der 3. Infusion bestätigt wurde. Ergänzende *in vitro* Untersuchungen am nativen Erguss zeigten nach Zugabe von Catumaxomab eine deutliche Freisetzung von Interleukin- (IL) 2, IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  in den Überstand. Zusätzlich wurde eine Proliferation von CD4- und CD8-positiven T-Lymphozyten sowie CD11c-positiven Monozyten beobachtet. Eine Bildung von HAMA oder HARA zeigte sich bei 4 bzw. 5 von 7 Patienten an Tag 60 nach Therapiebeginn.

Aufgrund der hohen Zahl an *drop-outs* im Rahmen dieser Studie sowie Todesfällen in zeitlicher Nähe zur Therapie stellt sich trotz klinischer und immunologischer Aktivität die Frage, ob der maligne Pleuraerguss mit seiner extrem eingeschränkten Lebenserwartung die richtige Indikation einer derartigen Immuntherapie ist. Letztlich musste die Studie vorzeitig ohne Bestimmung der maximal tolerablen Dosis beendet werden.

## **Publikation VII**

Sebastian M, Kiewe P, Schuette W, Brust D, Peschel C, Schneller F, Rühle KH, Nilius G, Ewert R, Lodziewski S, Passlick B, Siene W, Wiewrodt R, Jäger M, Lindhofer H, Friccius-Quecke H, Schmittel A.

**Treatment of malignant pleural effusion with the trifunctional antibody catumaxomab (Removab) (anti-EpCAM x Anti-CD3): results of a phase 1/2 study.**

J Immunother. 2009;32:195-202.

### **5.1.2 Neue Therapiemöglichkeiten beim Mammakarzinom mit dem anti-HER2 x anti-CD3 Antikörper Ertumaxomab**

HER2/neu ist bei 25-30% aller Mammakarzinome überexprimiert (Revillion et al, 1998) und mit einem aggressiveren Tumorwachstum und einer schlechteren Prognose assoziiert (Slamon et al, 1987). Der anti-HER2/neu-Antikörper Trastuzumab sowie Lapatinib, ein Inhibitor der Tyrosinkinasedomänen sowohl des EGF-Rezeptors als auch HER2/neu haben in Kombination mit Chemotherapie zu einer deutlichen Prognoseverbesserung des HER2/neu überexprimierenden Mammakarzinoms beigetragen (Slamon et al, 2001; Piccart-Gebhart et al, 2005; Romond et al, 2005; Joensuu et al, 2006; Geyer et al, 2006). Die Effektivität der Substanzen ist in der Monotherapie jedoch begrenzt und ihre Anwendung grundsätzlich beschränkt auf den Nachweis einer deutlichen Genamplifikation von HER2/neu. Eine Möglichkeit zur Steigerung der Effektivität einer Antikörper-basierten Therapie ist eine Verstärkung der immunologischen Effektorfunktion zum Beispiel mit bispezifischen Antikörpern. So konnte in einem präklinischen Modell für den bispezifischen, trifunktionalen anti-HER2/neu\*anti-CD3-Antikörper Ertumaxomab eine Wirksamkeit auch bei Tumorzellen mit geringerer Amplifikation von HER2/neu gezeigt werden (Jäger et al, 2009).

In einer Phase I Dosisfindungsstudie sollte eine systemische Therapie mit Ertumaxomab bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom, bei dem zum Studienzeitpunkt keine Indikation einer zytoreduktiven Therapie bestand, überprüft werden. Dabei wurden sowohl Patientinnen mit einer hohen Expression von HER2 (Score 3+ in der Immunhistochemie) auf den Tumorzellen als auch solche mit einer geringeren Expression (Score 1+ oder 2+) eingeschlossen. Der Antikörper wurde dreimalig in ansteigender Dosierung im wöchentlichen Abstand bis zu einer maximalen Dosis von 200µg intravenös verabreicht. Von 17 eingeschlossenen Patientinnen beendeten 15 die Studie regulär. Eine Einzeldosis von 100µg wurde als maximal tolerable Dosis identifiziert. Die meisten Nebenwirkungen waren wie erwartet bedingt durch ein *cytokine-release-syndrom* im Sinne von Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen und Übelkeit. Wie auch bei anderen Studien mit bispezifischen Antikörpern zeigte sich ferner eine transiente Lymphopenie und Leberwerterhöhung. Als schwere Nebenwirkungen wurden ein reversibler Kreislaufschock mit respiratorischem Versagen, ein systemisches inflammatorisches

*response* Syndrom (SIRS) mit transientem Nierenversagen sowie die Aggravierung einer vorbestehenden Herzinsuffizienz bei höheren Dosierungen beobachtet.

Ein objektives Ansprechen erreichten 3 Patientinnen in Dosisgruppen >100µg und mit einer HER2/neu Immunexpression von 3+ bzw. 2+ und positiver FISH. Eine Patientin mit CR ihrer mediastinalen Lymphknotenmetastasen war über >6 Monate rezidivfrei ohne weitere Therapie. Zwei Patientinnen mit Lungenmetastasen bzw. mediastinalen und retropektoralen Lymphknotenmetastasen erreichten eine partielle Remission, erhielten jedoch eine antihormonelle Therapie im Anschluss an die Studientherapie. Begleitend durchgeführte Zytokinmessungen mit deutlichem Anstieg von IL-6, TNF-α und vor allem IFN-γ suggerieren eine starke T-Helferzell-Antwort vom Typ 1, die eine zellvermittelte Immunantwort begünstigt. Bei etwa 30% der Patientinnen hatten sich am Tag 40 nach Therapiebeginn HAMA oder HARA gebildet.

Die beobachtete starke Immunreaktion erforderte ein enges Monitoring der Patientinnen, führte jedoch offensichtlich auch zu einem messbaren klinischen Ansprechen. Inwieweit ein Ansprechen auch bei Tumoren mit geringerer HER2/neu-Expression möglich ist, lässt sich anhand dieser Studie nicht klären, weil diese Patientinnen in den hohen Dosisgruppen unterrepräsentiert waren.

## **Publikation VIII**

Kiewe P, Hasmüller S, Kahlert S, Heinrigs M, Rack B, Marmé A, Korfel A, Jäger M, Lindhofer H, Sommer H, Thiel E, Untch M.

**Phase I trial of the trifunctional anti-HER2 x anti-CD3 antibody ertumaxomab in metastatic breast cancer.**

Clin Cancer Res. 2006;12:3085-91.

## 6. Diskussion

### ***6.1 Therapie von Lymphomen des ZNS, Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica***

Das primäre ZNS-Lymphom ist bzgl. Charakterisierung der BHS-Funktion besonders interessant, da es sich um eine äußerst chemo- und strahlentherapiesensible Neoplasie handelt, bei dem eine initial defekte BHS Funktion innerhalb kurzer Zeit wiederhergestellt ist (Ott et al, 1991) und daher Chemotherapien ohne Fähigkeit zur Überquerung der BHS nur kurz wirksam sind (Mead et al, 2000). Therapiestandard ist heute Methotrexat, welches in hoher Dosierung zu ausreichenden Wirkspiegeln in Hirngewebe und Liquor führt. Auch andere Substanzen mit nachgewiesener Penetration in das ZNS, wie z.B. Ifosfamid (Publikation I), finden in der Therapie des PZNSL Verwendung. Dabei ist die Datenlage auf überwiegend kleinere Phase II-Studien beschränkt und spiegelt nicht immer die Behandlungsrealität wider. In einer eigenen großen Kohorte konnten wir zeigen, dass auch bei einem unselektionierten Patientengut im Zeitalter der HDMTX-Therapie Überlebenszeiten von im Median über 40 Monaten sowie ein Langzeitüberleben bei einigen Patienten mit einer relativ milden Therapie erreicht werden können (Publikation II).

Weiter ungeklärt ist die notwendige Therapieintensität während der Primärbehandlung etwa durch Kombination von HDMTX mit anderen Substanzen. In einer kürzlich publizierten randomisierten multizentrischen Phase II-Studie zeigte sich eine Kombination aus HDMTX und HD-AraC mit optionaler WBRT einer Monotherapie hinsichtlich der Effektivität überlegen bei gleichzeitig erhöhter Toxizität (Ferreri et al, 2009). Aufgrund von unterdurchschnittlich schlechten Response- und Überlebenszeiten im Monotherapiearm ist die Aussagekraft dieser Studie allerdings anzuzweifeln. In einer eigenen Analyse zeigte eine Kombinationstherapie mit HDMTX und IFO bei PZNSL aber auch sekundären ZNS-Lymphomen sehr hohe Ansprechraten bei allerdings verstärkter Hämatotoxizität (Publikation III). Für jüngere Patienten könnte dies daher eine geeignete Induktionstherapie vor weiterer konsolidierender Behandlung etwa durch eine Hochdosis-Chemotherapie darstellen. Für ältere Patienten unterstreichen die guten Ergebnisse mit alleiniger HDMTX Therapie in unserem Zentrum die Effektivität einer Monotherapie (Publikation II). Für diese Patientengruppe (>70 Jahre) konnte auch in einer zuvor nicht geplanten Subgruppenanalyse der multizentrischen G-PCNSL-SG1 Studie kein Vorteil einer

Kombination von HDMTX/IFO gegenüber einer HDMTX Monotherapie gezeigt werden, weder bezüglich des Ansprechens noch Überlebens (eigene Daten, unveröffentlicht).

Eine Strahlentherapie des Gehirns insbesondere nach vorangegangener ZNS-gängiger Chemotherapie bedeutet insbesondere für ältere Menschen eine hohe Gefahr einer verzögert auftretenden Neurotoxizität mit progredienten neurokognitiven Defiziten (Abrey et al, 2000). Dies ist bei Patienten mit einer mittleren Lebenserwartung von teilweise >3 Jahren äußerst relevant wie sich auch in unserer Auswertung vor allem bei den Patienten zeigte, die nach einer HDMTX Therapie noch eine konsolidierende WBRT bekamen (Publikation II). Nach Veröffentlichung der Daten der G-PCNSL-SG1 Studie, in der 318 Patienten protokollgerecht zwischen einer konsolidierenden WBRT und einer reinen Nachbeobachtung randomisiert wurden, scheint eine Verschiebung der Strahlentherapie auf die Rezidivsituation ohne nachteilige Auswirkung auf das Überleben möglich und sinnvoll (Thiel et al, 2010).

Die Bedeutung einer intrathekalen bzw. intraventrikulären Therapie als Bestandteil des initialen Gesamtkonzeptes bleibt bei widersprüchlichen Daten weiter unklar und muss randomisiert überprüft werden. Dies gilt auch für Patienten mit meningealem Befall bei PZNSL, für die zumindest bei zytomorphologischem Nachweis von Lymphomzellen im Liquor eine schlechtere Prognose zu bestehen scheint (Publikation V).

Etablierte Prognosescores, wie etwa der des MSKCC-Score (Abrey, 2006; Publikation II) sind leider zur Klärung, welche Patienten von einer Therapieintensivierung oder konsolidierenden Bestrahlung profitieren können bzw. welche Patienten mit HDMTX alleine ausreichend behandelt sind, wenig hilfreich. Hier müssen prädiktive Marker etabliert werden. Analog der Situation z.B. bei Hodgkin-Lymphomen könnte etwa der Nachweis eines frühen Therapieansprechens im PET/CT oder funktionellen MRT für eine risikostratifizierte Therapie hilfreich sein. Entsprechende Untersuchungen zu PET und anderen funktionellen diagnostischen Verfahren im Therapieverlauf von PZNSL befinden sich allerdings noch in einer präliminären Phase (Kiewe et al, 2007).

Eine deutliche Verbesserung in der Prognose nahezu aller systemischen Lymphomerkrankungen erbrachte zuletzt der monoklonale anti-CD20-Antikörper Rituximab. Neuere Daten weisen darauf hin, dass vor allem eine frühe

Dosiseskalation von Rituximab bei älteren Patienten zu höheren Serumspiegeln und einem verbesserten Ansprechen führt (Pfreundschuh et al, 2008). Anhand unserer Untersuchungen mit 111-Indium und 90-Yttrium gekoppeltem Ibritumomab tiuxetan bei PZNSL konnten wir zeigen, dass initial, das heißt zum Zeitpunkt der größten Lymphomausdehnung, eine ausreichende Menge eines Antikörpers in das Tumorgewebe eindringen kann (Publikation IV). Aus diesem Grund scheint eine zusätzliche Gabe von Rituximab auch beim ZNS-Lymphom zumindest während der ersten Therapiezyklen gerechtfertigt und könnte dazu beitragen, die Effektivität der Initialtherapie zu erhöhen.

In der Rezidivsituation besteht beim PZNSL ein Bedarf an wirksamen und gleichzeitig gut verträglichen Medikamenten. Zahlreiche neue Substanzen werden aktuell in der Therapie indolenter und aggressiver NHL in Studien überprüft. Ihre potentielle Bedeutung für ZNS-Lymphome ist aber auch mangels Daten zur Penetration der BHS unklar. Eine wirksame Substanz bei DLBCL ist Temsirolimus, ein Inhibitor des *mammalian target of rapamycin* (mTOR) mit günstigem Toxizitätsprofil (Smith SM et al, 2010; Kiewe et al, 2010b). In der Therapie des rezidierten PZNSL mit Temsirolimus konnten wir in einer Phase II-Studie mit Temsirolimus in der Zwischenauswertung zwar kurz anhaltende Remissionen jedoch keine Penetration der Substanz in den Liquor nachweisen (Kiewe et al, 2010c). Diese Daten scheinen die Notwendigkeit einer Penetration der BHS beim PZNSL zu untermauern.

Die Studienlage für systemische NHL mit sekundärer Manifestation im ZNS ist begrenzt und beruht überwiegend auf retrospektiven Fallserien (Jahnke et al, 2006b). Den einzigen kurativen Ansatz in dieser Situation scheint derzeit eine Kombination aus einer wirksamen Induktionstherapie (Publikation III) gefolgt von einer Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation zu bieten, die aktuell in einer prospektiven klinischen Studie untersucht wird (NCT01148173). Ein besonderes Augenmerk gilt allerdings auch einer verbesserten Prophylaxe bei NHL-Patienten mit hohem Risiko für einen ZNS-Befall im Verlauf. Hier hat sich eine prophylaktische intrathekale Chemotherapie als unzureichend erwiesen, so dass nun innerhalb der Deutschen Studiengruppe für Hochmaligne Lymphome für diese Patientengruppe zusätzliche systemische Therapiezyklen mit HDMTX in die Primärtherapie mit Rituximab-CHOP integriert wurden (Herbert et al, 2008; Boehme et al, 2009).

Bei der Therapie von Hirnmetastasen mit konventioneller systemischer Chemotherapie erscheinen zumindest in der Rezidivsituation weitere Verbesserungen unwahrscheinlich. Auch eine intensive Kombinationschemotherapie mit Topotecan und IFO erreichte keinen entscheidenden therapeutischen Effekt, verdeutlichte aber aufgrund der erheblichen Toxizität das Problem einer systemischen Therapiestrategie bei diesem besonders kranken Patientengut (Publikation VI). Unsere Ergebnisse unterstreichen, dass bei soliden Tumoren offensichtlich die Chemotherapieresistenz des Tumors mehr als die ZNS-Gängigkeit einer bestimmten Substanz von Bedeutung ist. Dies erklärt auch das gute Ansprechen, das bei der Erstlinientherapie chemosensitiver Tumore, wie z.B. Keimzelltumore oder des kleinzelligen Bronchialkarzinoms, beobachtet wird. Aufgrund des unverändert bestehenden Bedarfs an einer wirksamen Therapie wird sich der Forschungsschwerpunkt auf die Untersuchung der zahlreichen neuen Substanzen richten, die bereits für den klinischen Einsatz verfügbar sind. Ein Beispiel ist der duale Tyrosinkinaseinhibitor Lapatinib, für den vor allem in Kombination mit Capecitabine bei zerebral metastasiertem Mammakarzinom mit HER2/neu Überexpression Ansprechraten von 20-30% berichtet werden (Boccardo et al, 2008; Lin et al, 2009; Metro et al, 2010; Sutherland et al, 2010). Ein weiterer interessanter Therapieansatz ist die Hemmung der Neoangiogenese, z.B. mit dem anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab. Bei malignen Gliomen wurde hier bereits über eine gute Kontrolle der peritumoralen Ödembildung mit reduzierter Steroidabhängigkeit berichtet (Vredenburgh et al, 2007). Zur Therapie von Hirnmetastasen mit Bevacizumab liegen bislang nur einige Fallserien vor.

Die Erkenntnis über eine Wirksamkeit neuer Substanzen bei Hirnmetastasen stützt sich oft nur auf retrospektive Auswertungen oder kleine prospektive Studien mit einem selektionierten Patientengut. Zur Beantwortung der Frage, welche Substanz eine echte Verbesserung der Behandlung von Hirnmetastasen bringen kann, sind größere, kontrollierte Studien notwendig, die auch klären sollten, in welchem Ausmaß tatsächlich eine Penetration in das Hirngewebe erfolgt bzw. welchen Einfluss die Funktionalität der BHS auf den Therapieerfolg hat.

Aufgrund der beschränkten Datenlage zur Therapie der Meningeosis neoplastica sind aussagefähige Studien ebenfalls dringend geboten. Da insbesondere bei Patientinnen mit Mammakarzinom ein längeres Überleben möglich erscheint (Publikation VI), sollte gerade hier die Bedeutung einer systemischen Therapie, die

ausreichende Medikamentenspiegel im Liquor erreicht, auch in Kombination mit einer intrathekalen Behandlung prospektiv überprüft werden.

## **6.2 Trifunktionale Antikörper in der intrakavitären und systemischen Therapie**

Mit der Zulassung des bispezifischen, trifunktionalen Antikörpers Catumaxomab, der gegen EpCAM und CD3 gerichtet ist, steht erstmals ein spezifisches palliatives Therapieverfahren des malignen Aszites zur Verfügung. Dabei scheint jedoch auch hier eine erfolgreiche Therapie vom Allgemeinzustand, Immunstatus und der Lebenserwartung der Patienten abzuhängen. Dies könnte ursächlich für die enttäuschenden Ergebnisse mit Catumaxomab beim malignen Pleuraerguss sein (Publikation VII). Weitere Studien müssen nun klären, welche Patienten am ehesten und zu welchem Zeitpunkt von der Therapie profitieren. So scheint es sinnvoller, die Antikörpergabe zu einem möglichst frühen Zeitpunkt in der Therapiesequenz durchzuführen, um von einer intakten Immunreaktivität zu profitieren. Studien fokussieren aktuell daher auf einen peri- bzw. postoperativen Einsatz im Rahmen der Resektion von fortgeschrittenen Magen- oder Ovarialkarzinomen und einer Therapie der isolierten Peritonealkarzinose in Kombination mit systemischer Chemotherapie (Chekerov et al, 2010). Aufgrund von *in vitro* Daten, nach denen die anti-Tumor Aktivität von Catumaxomab in Gegenwart von Prednisolon nicht beeinträchtigt ist (Ruf et al, 2010), wird in der CASIMAS-Studie eine Komedikation mit Prednisolon bei der Therapie des malignen Aszites mit Catumaxomab untersucht. Mit diesem Vorgehen könnten die doch teilweise belastenden durch das *cytokine-release-syndrome* bedingten Nebenwirkungen künftig begrenzt werden. Aufgrund der Erkenntnis, dass nach Catumaxomab-Gabe zwar die Bildung von HAMA und HARA induziert wird, diese Antikörper jedoch nur zu einem geringen Anteil die peritoneale Barriere passieren, soll in der SECIMAS-Studie die Machbarkeit einer wiederholten intraperitonealen Therapiegabe geklärt werden (Pietzner et al, 2010). Weiterhin wurde das Potential einer systemischen intravenösen Applikation von Catumaxomab wurde nach einer einzigen Phase I Studie bislang noch nicht ausgeschöpft.

Die klinische Entwicklung des bispezifischen trifunktionalen anti-HER2/neu x anti-CD3 Antikörpers Ertumaxomab steckt im Vergleich zum Schwestermolekül noch in den Anfängen. Neben wenigen publizierten intraperitonealen Applikationen ist die klinische Datenlage bisher auf eine Phase I Studie zur Dosisfindung bei der systemischen Applikation begrenzt (Publikation VIII). Trotz der beobachteten Effektivität bei einigen Patienten ist die weitere klinische Entwicklung des Antikörpers erschwert durch die

vergleichsweise enge therapeutische Indikation bei HER2/neu positiven Mammakarzinomen und die große Konkurrenz anderer anti-HER2/neu gerichteter Substanzen wie Trastuzumab, Lapatinib und zahlreicher neuer Agenzien. In diesem Zusammenhang bleibt abzuwarten, ob sich in künftigen Studien eine Aktivität von Ertumaxomab auch bei geringerer Genamplifikation von HER2/neu zeigt, wie präklinische Untersuchungen suggerieren (Jäger et al, 2009).

## 7. Zusammenfassung

Bei der Therapie maligner Erkrankungen stellen anatomisch und funktionell definierte Barrieren eine besondere Herausforderung dar. Tumormanifestationen hinter diesen Barrieren besetzen eine Nische, in der sie einer effektiven Therapie häufig schwer zugänglich sind. Dies bedeutet für die betroffenen Patienten neben einer lokalisationsbedingten Einschränkung der Lebensqualität auch eine schlechtere Prognose *quo ad vitam*.

Insbesondere die Neuroonkologie scheint von allgemein zu verzeichnenden Fortschritten nicht im gleichen Maß zu profitieren. Eine Modellerkrankung hinsichtlich der therapeutischen Bedeutung der BHS stellen Lymphome des ZNS dar, da hier der Vorteil einer die BHS penetrierenden systemischen Therapie belegt ist.

Zur Wertigkeit von etablierten und neuen ZNS-gängigen Therapien konnten im Rahmen dieser Arbeit neue Erkenntnisse gewonnen werden:

- Für das Zytostatikum IFO und seinen aktiven Metaboliten 4-OH-IFO konnte eine gute Penetration in den Liquor erwachsener Patienten belegt werden.
- Die gute Wirksamkeit einer HDMTX-haltigen Chemotherapie konnte nun auch an einem unselektionierten Patientengut bestätigt werden. Außerdem fanden sich Hinweise, dass ein sequentielles Vorgehen mit einer primären HDMTX Monotherapie insbesondere für ältere Patienten ein adäquates Vorgehen darstellen kann. Zusätzlich konnte im Rahmen dieser Auswertung der MSKCC Prognosescore validiert werden.
- Hinsichtlich eines geeigneten Kombinationspartners für HDMTX in der Therapie zerebraler Lymphome konnte mit einer HDMTX/IFO-Kombinationstherapie eine sehr hohe Ansprechrates demonstriert werden. Unter Beachtung der ausgeprägten Hämatoxizität bildet dies eine Grundlage für weitere Therapiekonzepte bei ZNS-Lymphomen.
- Im Rahmen einer Therapiestudie mit dem radioaktiv markierten anti-CD20-Antikörper Ibritumomab tiuxetan konnte die Funktion der BHS beim PZNSL besser charakterisiert werden. Die in der SPECT gesehene intensive Aufnahme des Antikörpers belegt, dass die BHS initial auch für große Moleküle durchbrochen ist, was sich auch in einer therapeutischen Aktivität widerspiegelt. Andererseits waren die beobachteten Remissionen von kurzer Dauer, und es kam zu Rezidiven an anderer Stelle, was auf eine fehlende Erreichbarkeit von Tumormanifestationen hinter einer intakten BHS hindeuten kann.

- Für die seltene Konstellation eines primären ZNS-Lymphoms mit disseminiertem Befall des Liquorkompartiments konnte gezeigt werden, dass eine systemische Therapie mit HDMTX eine wirksame Therapie darstellt, auch wenn die Bedeutung einer zusätzlichen intrathekalen Chemotherapie weiter unklar bleibt. In der Diagnostik erbrachten modernere Untersuchungsverfahren wie Immunzytologie und Molekulargenetik keinen Vorteil. Weiterhin hatte ausschließlich die zytomorphologische Diagnose eines Liquorbefalls eine (ungünstige) prognostische Bedeutung.
- In der Therapie von Hirnmetastasen und Meningeosis neoplastica konnte eine Kombinationstherapie mit den ZNS-gängigen Zytostatika TOPO und IFO konnte bei einigen Patienten –insbesondere mit Mammakarzinom– einen neurologischen Benefit erzielen. Allerdings ist die Therapie aufgrund der ausgeprägten Hämatotoxizität mit Gefahr infektiöser Komplikationen nur bedingt praktikabel. Für einen Großteil der Patienten bleibt die Prognose weiterhin infaust.

Für die Therapie des malignen Aszites steht mit dem trifunktionalen Antikörper Catumaxomab erstmals eine zugelassene spezifische Therapie des malignen Aszites zur Verfügung. Weitere Einsatzmöglichkeiten dieses neuen immunologischen Therapieansatzes wurden dargestellt:

- In einer Studie zur intrapleurale Gabe von Catumaxomab bestätigte sich die schlechte Prognose von Patienten mit malignem Pleuraerguss. Zwar konnte eine deutliche immunologische Aktivität sowie Reduktion der Tumorzellen im Pleuraerguss gezeigt werden, es profitierten aber aufgrund einer zumeist extrapleurale Tumorprogression nur wenige Patienten von diesem lokaltherapeutischen Konzept.
- Ein weiterer bispezifischer Antikörper mit Spezifität für CD3 und den HER2/neu Rezeptor, der auf einigen Mammakarzinomen verstärkt exprimiert ist, wurde in einer Phase I Studie erstmals in der systemischen Therapie untersucht. Dabei zeigte sich eine starke immunologische Reaktion mit den erwarteten Nebenwirkungen eines *cytokine-release-syndroms*. Die ermutigenden Remissionen bei Patienten mit hoher Amplifikation von HER2/neu müssen in weiteren klinischen Studien bestätigt werden. Dies gilt auch für den möglichen Einsatz in der Lokaltherapie maligner Ergüsse.

## 8. Literatur

- Abbott NJ (2000) Inflammatory mediators and modulation of blood–brain barrier permeability. *Cell Mol Neurobio.* 20,131–147.
- Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E (2006) Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci* 7:41-53.
- Abrey LE, DeAngelis LM, Yahalom J (1998) Long-term survival in primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 16:859-863.
- Abrey LE, Yahalom J, DeAngelis LM (2000) Treatment for primary CNS lymphoma: the next step. *J Clin Oncol* 18:3144-3150.
- Abrey LE, Olson JD, et al. (2001) A phase II trial of temozolomide for patients with recurrent or progressive brain metastases. *J Neurooncol* 53: 259–265
- Abrey LE, Moskowitz CH, et al (2003) Intensive methotrexate and cytarabine followed by high-dose chemotherapy with autologous stem-cell rescue in patients with newly diagnosed primary CNS lymphoma: an intent-to-treat analysis. *J Clin Oncol* 21:4151-4156.
- Abrey LE, Ben-Porat L, et al (2006) Primary central nervous system lymphoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center prognostic model. *J Clin Oncol* 24:5711-5.
- Agarwala SS, Kirkwald JM, et al (2004) Temozolomide for the treatment of brain metastases associated with metastatic melanoma: A phase II study. *J Clin Oncol* 22: 2101–2107
- Angelov L, Doolittle ND, et al (2009) Blood-brain barrier disruption and intra-arterial methotrexate-based therapy for newly diagnosed primary CNS lymphoma: a multi-institutional experience. *J Clin Oncol* 27:3503-9.
- Alvarnas JC, Negrin RS, et al (2000) High-dose therapy with hematopoietic cell transplantation for patients with central nervous system involvement by non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 6:352–358.
- Antonadou D, Paraskevaidis M, et al. Phase II randomized trial of temozolomide and concurrent radiotherapy in patients with brain metastases. *J Clin Oncol* 2002;20:3644 –3650.
- Antony VB, Nasreen N, et al (2004) Talc pleurodesis: basic fibroblast growth factor mediates pleural fibrosis. *Chest* 126:1522–1528.
- Arndt CA, Balis FM, et al (1988) Cerebrospinal Fluid penetration of active metabolites of cyclophosphamide and ifosfamide in rhesus monkeys. *Cancer Res* 48:2113–2115.
- Arellano-Rodrigo E, Lopez-Guillermo A, et al (2003) Salvage treatment with etoposide (VP-16), ifosfamide and cytarabine (Ara-C) for patients with recurrent primary central nervous system lymphoma. *Eur J Haematol* 70:219–224.
- Baker SD, Heideman RL, et al (1996) Cerebrospinal fluid pharmacokinetics and penetration of continuous infusion topotecan in children with central nervous system tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 37:195–202.
- Balmaceda C, Gaynor JJ, Sun M, Gluck JT, DeAngelis LM (1995) Leptomeningeal tumor in primary central nervous system lymphoma: recognition, significance, and implications. *Ann Neurol* 38:202–209.
- Barnholtz-Sloan JS, Sloan AE, et al (2004) Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System. *J Clin Oncol* 22:2865–2872.
- Bart J, Groen HJ, et al (2000) The blood-brain barrier and oncology: new insights into function and modulation. *Cancer Treat Rev* 26:449-62.
- Batchelor T, Carson K, et al (2003) Treatment of primary CNS lymphoma with methotrexate and deferred radiotherapy: a report of NABTT 96-07. *J Clin Oncol* 21:1044–1049.
- Batchelor T, Loeffler JS (2006) Primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 24:1281-1288.
- Bindal RK, Sawaya R, Leavens ME, Lee JJ (1993) Surgical treatment of multiple brain metastases. *J Neurosurg* 79:210 –216.

- Blaney SM, Poplack DG (1996) Pharmacologic strategies for the treatment of meningeal malignancy. *Invest New Drugs* 14:69–85.
- Blay JY, Conroy T, et al (1998) High-dose methotrexate for the treatment of primary cerebral lymphomas: analysis of survival and late neurologic toxicity in a retrospective series. *J Clin Oncol* 16:864–871.
- Boccardo F, Kaufman B, et al (2008) Evaluation of lapatinib (Lap) plus capecitabine (Cap) in patients with brain metastases (BM) from HER2+ breast cancer (BC) enrolled in the Lapatinib Expanded Access Program (LEAP) and French Authorisation Temporaire d'Utilisation (ATU). *J Clin Oncol* 26 (May 20 suppl; abstr 1094).
- Boehme V, Schmitz N, et al (2009) CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood* 113:3896–902.
- Bokstein F, Lossos A, Siegal T (1998) Leptomeningeal metastases from solid tumors: A comparison of two prospective series treated with and without intra-cerebrospinal fluid chemotherapy. *Cancer* 82:1756–1763.
- Bokstein F, Lossos A, et al (2002) Central nervous system relapse of systemic non-Hodgkin's lymphoma: results of treatment based on high-dose methotrexate combination chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 43:587–593.
- Brada M, Hjiyiannakis D, et al (1998) Short intensive primary chemotherapy and radiotherapy in sporadic primary CNS lymphoma (PCL). *Int J Rad Oncol Biol Phys* 40:1157–1162.
- Burges A, Wimberger P, et al (2007) Effective relief of malignant ascites in patients with ovarian cancer by a trifunctional anti-EpCAM x anti-CD3 antibody: a phase I/II study. *Clin Cancer Res* 13:899–905.
- Burrows CM, Mathews WC, Colt HG (2000) Predicting survival in patients with recurrent symptomatic malignant pleural effusions: an assessment of the prognostic values of physiologic, morphologic, and quality of life measures of extent of disease. *Chest* 117:73–78.
- Chamberlain MC (2008) Neoplastic meningitis. *Oncologist* 13:967–977.
- Chekerov R, Reinhaller A, et al (2010) Intraoperative immunotherapy with the trifunctional antibody catumaxomab in patients with ovarian cancer: results from a phase II study. *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr 5039)
- Christodoulou C, Bafaloukos D, et al. Hellenic Cooperative Oncology Group (2001) Phase II study of temozolomide in heavily pretreated cancer patients with brain metastases. *Ann Oncol* 12: 249–254
- Davson H (1978). The environment of the neurons. *Trends Neurosci* 1:39–41.
- DeAngelis LM, Seiferheld W, et al (2002) Combination Chemotherapy and Radiotherapy for Primary Central Nervous System Lymphoma: Radiation Therapy Oncology Group Study 93-10. *J Clin Oncol* 20:4643–4648.
- Dresler TM, Olak J, Herndon JE, et al (2005) Phase III intergroup study of talc poudrage versus talc slurry sclerosis for malignant pleural effusion. *Chest* 127:909–915.
- Dziadziuszko R, Ardizoni A, et al. EORTC Lung Cancer Group (2003) Temozolomide in patients with advanced non-small cell lung cancer with and without brain metastases. a phase II study of the EORTC Lung Cancer Group (08965). *Eur J Cancer* 39: 1271–1276
- Eichler AF, Loeffler JS (2007) Multidisciplinary management of brain metastases. *Oncologist* 12:884–898.
- Ei-Bacha RS, Minn A (1999) Drug metabolizing enzymes in cerebrovascular endothelial cells afford a metabolic protection to the brain. *Cell Mol Biol* 45, 15–23.
- Ferreri AJ, Blay JY, Reni M, et al (2003) Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J Clin Oncol* 21:266–272.
- Ferreri AJ, Reni M (2005) Prognostic Factors in Primary Central Nervous System Lymphomas. *Hematol Oncol Clin N Am* 19:629–649.
- Ferreri AJ, Dell'Orao S, et al (2006) MATILDE regimen followed by radiotherapy is an active strategy against primary CNS lymphomas. *Neurology* 66:1885–1887.

- Ferreri AJ, Reni M, et al (2009) High-dose cytarabine plus high-dose methotrexate versus high-dose methotrexate alone in patients with primary CNS lymphoma: a randomised phase 2 trial. *Lancet* 374:1512-20.
- Fischer L, Thiel E, Klasen HA, et al (2004) Response of relapsed or refractory primary central nervous system lymphoma (PCNSL) to topotecan. *Neurology* 62:1885-1887.
- Garrison RN, Kaelin LD, et al (1986) Malignant ascites. Clinical and experimental observations. *Ann Surg* 203:644-651.
- Gavrilovic IT, Hormigo A, Yahalom J, DeAngelis LM, Abrey LE (2006) Long-term follow-up of high-dose methotrexate-based therapy with and without whole brain irradiation for newly diagnosed primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4570–4574.
- Gerstner ER, Fine RL (2007) Increased permeability of the blood-brain barrier to chemotherapy in metastatic brain tumors: establishing a treatment paradigm. *J Clin Oncol* 25: 2306–2312.
- Glantz MJ, Cole BF, et al (1998) High-Dose Intravenous Methotrexate for Patients With Nonleukemic Leptomeningeal Cancer: Is Intrathecal Chemotherapy Necessary? *J Clin Oncol* 16:1561-1567.
- Glass J, Gruber ML, Cher L, Hochberg FH (1994) Preirradiation methotrexate chemotherapy of primary central nervous system lymphoma: long-term outcome. *J Neurosurg* 81:188-195.
- Heiss MM, Ströhlein MA, Jäger M, et al (2005) Immunotherapy of malignant ascites with trifunctional antibodies. *Int J Cancer* 117:435-43.
- Heiss MM, Murawa P, Koralewski P (2010) The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer: Results of a prospective randomized phase II/III trial. *Int J Cancer* 127:2209-21.
- Herben VM, ten Bokkel Huinink WW, Beijnen JH (1996) Clinical pharmacokinetics of topotecan. *Clin Pharmacokinet* 31:85–102.
- Herbert K, Wolf M, Carney D, et al (2008) The addition of systemic high-dose methotrexate (HDMTX) to intrathecal chemotherapy (IT) for central nervous system prophylaxis substantially reduces CNS recurrence rates in patients with at-risk aggressive lymphoma: a historically controlled prospective study. *Blood.* 2008;112:1230. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 112:3596.
- Herrlinger U, Brugger W, Bamberg M, et al (2000) PCV salvage chemotherapy for primary CNS lymphoma. *Neurology* 54:1707-1708.
- Herrlinger U, Schabet M, Brugger W, et al (2001) Primary central nervous system lymphoma 1991–1997: outcome and late adverse effects after combined modality treatment. *Cancer* 91:130–135.
- Hodson DJ, Bowles KM, Cooke LJ, et al (2005) Primary central nervous system lymphoma: a single-centre experience of 55 unselected cases. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 17:185–191.
- Illerhaus G, Marks M, Ihorst G, et al (2006) High-dose chemotherapy with autologous stem-cell transplantation and hyperfractionated radiotherapy as first-line treatment of primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 24:3865-3870.
- Jäger M, Schoberth A, Ruf P, et al (2009) The trifunctional antibody ertumaxomab destroys tumor cells that express low levels of human epidermal growth factor receptor 2. *Cancer Res* 69:4270-6.
- Jahnke K, Korfel A, Martus P, et al; on the behalf of the German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG) (2005a) High-dose methotrexate toxicity in elderly patients with primary central nervous system lymphoma. *Ann Oncol* 16:445-449.
- Jahnke K, Wagner T, Bechrakis NE et al (2005b) Pharmacokinetics and efficacy of ifosfamide or trofosfamide in patients with intraocular lymphoma. *Ann Oncol* 16:1974–1978.
- Jahnke K, Thiel E, Martus P, et al (2006a) Retrospective study of prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma secondarily involving the central nervous system. *Ann Hematol* 85:45–50.
- Jahnke K, Thiel E, Martus P, Schwartz S, Korfel A (2006b) Retrospective study of prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma secondarily involving the central nervous system. *Ann Hematol* 85:45-50.
- Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P, et al (2006) Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 354:809-20.
- Johnston WW (1985) The malignant pleural effusion. A review of cytopathologic diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. *Cancer* 56:905-9.

- Kajiser GP, De Kraker J, Bult A, Underberg WJ, Beijnen JH (1998) Pharmacokinetics of ifosfamide and some metabolites in children. *Anticancer Res* 18:1941–1949.
- Kiewe P, Maza S, Munz DL, Korfel A, Thiel E (2007). F-18-labeled fluorodeoxyglucose positron emission tomography for evaluation of disease extent, response to treatment and follow-up in primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol ASCO Annual Meeting Proceedings*, Vol 25, No 18S, 1007:2015.
- Kiewe P, Thiel E (2008) Ertumaxomab: a trifunctional antibody for breast cancer treatment. *Expert Opin Investig Drugs* 17:1553-8.
- Kiewe P, Thiel E (Hrsg.) (2010a) Peritonealkarzinose und maligner Aszites. UniMed Verlag, Bremen
- Kiewe P, Thiel E (2010b) Impressive response to temsirolimus in a patient with chemotherapy refractory diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* Apr 13.
- Kiewe P, Korfel A, Grobosch T, Thiel E (2010c) Temsirolimus for relapsed primary central nervous system lymphoma: efficacy and pharmacokinetic data. *Onkologie* 33 (Suppl. 6, Kongress der deutschen, österreichischen und schweizerischen Fachgesellschaften für Hämatologie und Onkologie 2010):Abstract V695
- Korfel A, Oehm C, von Pawel J, et al (2002) Response to topotecan of symptomatic brain metastases of small-cell lung cancer also after whole-brain irradiation. A multicentre phase II study. *Eur J Cancer* 38:1724–1729.
- Korfel A, Martus P, Nowrousian MR, et al (2005) German primary central nervous system lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG). Response to chemotherapy and treating institution predict survival in primary central nervous system lymphoma. *Br J Haematol* 128:177-183.
- Lagerwaard FJ, Levendag PC, et al (1999) Identification of prognostic factors in patients with brain metastases: a review of 1292 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 43:795–803.
- Lassman AB, Abrey LE, Shah GD, et al (2006) Systemic high-dose intravenous methotrexate for central nervous system metastases. *J Neurooncol* 78:255–260.
- Lin NU, Diéras V, Paul D, et al (2009) Multicenter phase II study of lapatinib in patients with brain metastases from HER2-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 5:1452-9.
- Lindhofer H, Mocikat R, Steipe B, Thierfelder S (1995) Preferential species-restricted heavy/light chain pairing in rat/mouse quadromas. Implications for a single-step purification of bispecific antibodies. *J Immunol* 155:219-55.
- Mead GM, Bleehen NM, Gregor A, et al (2000) A Medical Research Council randomized trial in patients with primary cerebral Non-Hodgkin lymphoma: Cerebral radiotherapy with and without cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy. *Cancer* 89:1359-1370.
- Metro G, Foglietta J, Russillo M, et al (2010) Clinical outcome of patients with brain metastases from HER2-positive breast cancer treated with lapatinib and capecitabine. *Ann Oncol*. Aug 19. [Epub ahead of print]
- Muldoon LL, Soussain C, Jahnke K, et al (2007) Chemotherapy delivery issues in central nervous system malignancy: a reality check. *J Clin Oncol* 25:2295-305.
- Murren JR, Anderson S, et al (1997) Dose-escalation and pharmacodynamic study of topotecan in combination with cyclophosphamide in patients with refractory cancer. *J Clin Oncol* 15:148–157.
- Nelson DF, Martz KL, et al (1992) Non-Hodgkin's lymphoma of the brain: can high dose, large volume radiation therapy improve survival? Report on a prospective trial by the radiation therapy oncology group (RTOG): RTOG 8315. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 23:9-17.
- Oberhoff C, Kieback DG, et al (2001) Topotecan chemotherapy in patients with breast cancer and brain metastases: Results of a pilot study. *Onkologie* 24:256–260.
- O'Brien P, Roos D, et al (2000) Phase II multicenter study of brief single-agent methotrexate followed by irradiation in primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 18:519-526.
- Ott RJ, Brada M, Flower MA, et al (1991) Measurements of blood-brain barrier permeability in patients undergoing radiotherapy and chemotherapy for primary cerebral lymphoma. *Eur J Cancer* 27:1356-1361.
- Panageas KS, Elkin EB, et al (2005) Trends in survival from primary central nervous system lymphoma, 1975–1999: a population-based analysis. *Cancer* 104:2466–2472.
- Pardridge WM (1997) Drug delivery to the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 17:713-731.

- Parsons SL, Watson SA, et al (1996) Malignant ascites. *Br J Surg* 83:6-14.
- Patchell RA, Tibbs PA, Walsh JW, et al (1990) A randomized trial of surgery in the treatment of single metastases to the brain. *N Engl J Med* 322:494–500.
- Pels H, Schmidt-Wolf IGH, et al (2003) Primary central nervous system lymphoma: results of a pilot and phase II study of systemic and intraventricular chemotherapy with deferred radiotherapy. *J Clin Oncol* 21:4489-4495.
- Pels H, Juergens A, Glasmacher A, et al (2009) Early relapses in primary CNS lymphoma after response to polychemotherapy without intraventricular treatment: results of a phase II study. *J Neurooncol* 91:299-305.
- Pfreundschuh M, Zeynalova S, Pöschel V, et al (2008) Improved outcome of elderly patients with poor-prognosis diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) after dose-dense rituximab: Results of the DENSE-R-CHOP-14 trial of the German high-grade non-Hodgkin lymphoma study group (DSHNHL). *Ann Oncol* 19 (Suppl. 4):iv99-iv100, abstract 053
- Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al (2005) Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353:1659-72.
- Pietzner K, Linke RG, Jäger M, et al (2010) Phase II clinical trial to evaluate the safety of repeated cycle of intraperitoneal catumaxomab for treatment of malignant ascites (SECIMAS) *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr TPS155)
- Putnam JB Jr (2002) Malignant pleural effusions. *Surg Clin N Am* 82:867–883.
- Reni M, Ferreri AJ (2001a) Therapeutic management of refractory or relapsed primary central nervous system lymphomas. *Ann Hematol* 80 Suppl 3:B113-7.
- Revillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP (1998) ErbB-2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 34:791 -808.
- Romond EH, Perez EA, et al (2005) Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353:1673-84.
- Ruf P, Lindhofer H (2001) Induction of a long-lasting antitumor immunity by a trifunctional bispecific antibody. *Blood* 98:2526-34.
- Ruf P, Kluge M, Jäger M, et al (2010) Pharmacokinetics, immunogenicity and bioactivity of the therapeutic antibody catumaxomab intraperitoneally administered to cancer patients. *Br J Clin Pharmacol* 69:617-25.
- Schlagetter KE, Molnar P, et al (1999) Microvessel organisation and structure in experimental brain tumors: microvessel populations with distinctive structural and functional properties. *Microvasc Res* 58:312-328.
- Sebastian M, Passlick B, Friccius-Quecke H (2007) Treatment of non-small cell lung cancer patients with the trifunctional monoclonal antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3): a phase I study. *Cancer Immunol Immunother* 56:1637-44.
- Sebastian M, Kuemmel A, Schmidt M, Schmittel A (2009) Catumaxomab: a bispecific trifunctional antibody. *Drugs Today (Barc)* 45:589-97.
- Shapiro WR, Young DF, Mehta BM (1975) Methotrexate: Distribution in cerebrospinal fluid after intravenous, ventricular and lumbar injections. *N Engl J Med* 293:161-166
- Shenkier TN, Voss N, et al (2005) The treatment of primary central nervous system lymphoma in 122 immunocompetent patients: a population-based study of successively treated cohorts from the British Columbia Cancer Agency. *Cancer* 103:1008–1017.
- Slamon DJ, Clark GM, et al (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of HER2/neu oncogene. *Science* 235:177-82.
- Slamon DJ, Leyland-Jones B, et al (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344:783-92.
- Smith ML, Lee JY (2007) Stereotactic radiosurgery in the management of brain metastasis. *Neurosurg Focus* 22: E5.
- Smith SM, van Besien K, et al (2010) Temsirolimus Has Activity in Non-Mantle Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Subtypes: The University of Chicago Phase II Consortium. *J Clin Oncol* Sep 13 (epub ahead of print).

- Soussain C, Suzan F, et al (2001) Results of intensive chemotherapy followed by hematopoietic stem-cell rescue in 22 patients with refractory primary CNS lymphoma or intraocular lymphoma. *J Clin Oncol* 19:742-749.
- Spector R, Johanson CE (1989) The mammalian choroid plexus. *Sci Am* 261:68-74.
- Sperduto PW, Chao ST, et al (2010) Diagnosis-specific prognostic factors, indexes, and treatment outcomes for patients with newly diagnosed brain metastases: a multi-institutional analysis of 4,259 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 77:655-661.
- Sutherland S, Ashley S, et al (2010) Treatment of HER2-positive metastatic breast cancer with lapatinib and capecitabine in the lapatinib expanded access programme, including efficacy in brain metastases--the UK experience. *Br J Cancer* 102:995-1002
- Tamsma JT, Keizer HJ, Meinders AE (2001) Pathogenesis of malignant ascites: Starling's law of capillary hemodynamics revisited. *Ann Oncol* 12:1353-7.
- Tan C, Sedrakyan A, Browne J, et al (2006) The evidence on the effectiveness of management for malignant pleural effusion: a systematic review. *Eur J Cardiothorac Surg* 29:829-838.
- Thiel E, Korfel A, Martus P, et al (2010) High-dose methotrexate with or without whole brain radiotherapy for primary CNS lymphoma (G-PCNSL-SG-1): a phase 3, randomised, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* Oct 20 (epub ahead of print)
- van Besien K, Ha CS, Murphy S, et al (1998) Risk factors, treatment, and outcome of central nervous system recurrence in adults with intermediate-grade and immunoblastic lymphoma. *Blood* 91:1178-1184.
- Vecht CJ, Haaxma-Reiche H, Noordijk EM, et al (1993) Treatment of single brain metastasis: Radiotherapy alone or combined with neurosurgery? *Ann Neurol* 33:583-590.
- Vergers E, Gil M, Yaya R et al (2005) Temozolomide and concomitant whole brain radiotherapy in patients with brain metastases: A phase II randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61:185-191.
- Vredenburgh JJ, Desjardins A, et al (2007) Phase II trial of bevacizumab and irinotecan in recurrent malignant glioma. *Clin Cancer Res* 13:1253-1259
- Wasserstrom WR, Glass JP, Posner JB (1982) Diagnosis and treatment of leptomeningeal metastases from solid tumors: Experience with 90 patients. *Cancer* 49:759-772.
- Weller M (2003) Neuroonkologie. *Nervenarzt* 74:1139-1149.
- Went PT, Lugli A, Meier S, et al (2004) Frequent EpCAM protein expression in human carcinomas. *Hum Pathol* 35:122-8.
- Wong ET, Berkenblit A (2004) The role of topotecan in the treatment of brain metastases. *Oncologist* 9:68-79.
- Yule SM, Price L, Pearson AD, Boddy AV (1997) Cyclophosphamide and ifosfamide metabolites in the cerebrospinal fluid of children. *Clin Cancer Res* 3:1985-1992.
- Zeidler R, Reisbach G, et al (1999) Simultaneous activation of T-cells and accessory cells by a new class of intact bispecific antibody results in efficient tumor cell killing. *J Immunol* 163:1246-52.
- Zeidler R, Mysliwicz J, Csanady M, et al (2000) The Fc-region of a new class of intact bispecific antibody mediates activation of accessory cells and NK cells and induces direct phagocytosis of tumor cells. *Br J Cancer* 83:261.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn *Prof. Dr. Dr. h.c. Eckhard Thiel*, der meine klinische und wissenschaftliche Ausbildung großzügig unterstützt und mir seine Begeisterung für neue Entwicklungen im Bereich der Hämatologie und Onkologie, insbesondere auch der Neuro-Onkologie, vermittelt hat. Seine stetigen Anregungen und Motivationsschübe spiegeln sich in der Vollendung dieser Arbeit wider.

Frau *PD Dr. Agnieszka Korfel* trägt einen unschätzbar hohen Anteil am Gelingen der hier dargestellten Projekte. Ich verdanke ihr insbesondere ein Grundverständnis klinisch-wissenschaftlicher Arbeit, die Planung und Durchführung klinischer Studien und die Fähigkeit, wissenschaftliche Publikationen zu verfassen. Bei der klinischen Arbeit war sie mir stets ein Vorbild. Ich habe von ihr am meisten gelernt und immer ihre Geduld und freundschaftliche Unterstützung erfahren.

Herrn *PD Dr. Nagorsen* danke ich für die Einblicke in tumorimmunologische Fragestellungen, die freundschaftliche Begleitung zahlreicher spannender gemeinsamer Projekte und den Glauben an einen erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit. Letzteres gilt auch in besonderem Maß für Herrn *Prof. Dr. Wolf-Karsten Hofmann*, der mir moderne Wege in der Diagnostik hämatologischer Erkrankungen näher brachte und aktiv meine wissenschaftliche Tätigkeit unterstützte.

Frau *Vanessa Brendel* und Frau *Brigitta Rieger* danke ich für die Unterstützung bei Dokumentation und Durchführung klinischer Studien und für permanenten Zuspruch und unverzichtbare Hilfestellungen im Alltag.

Diese Arbeit wäre ohne die Hilfe zahlreicher interner und externer Kooperationspartner nicht möglich gewesen. Mein Dank gilt daher den Kollegen *Dr. Lars Fischer*, *Dr. Kristoph Jahnke*, *Dr. Mark Reinwald* und *Dr. Martin Neumann*, die mir bei der Durchführung einzelner Projekte geholfen haben. Weiterhin hätte ich niemals auf die Hilfe von Herrn *Prof. Christoph Loddenkemper* (Pathologie), Herrn *Prof. Peter Martus* und Frau *Andrea Stroux* (Statistik), Herrn *Dr. Sofiane Maza* und Herrn *Prof. Dr. Dieter Ludwig Munz* (Nuklearmedizin) sowie Herrn *Dr. Sepp Seyfert* (Neurologie) verzichten können. Ihnen, und auch den Kollegen von außerhalb der Charité, Herrn *Prof. Dr. Thomas Wagner* (Universitätsklinikum Schleswig-Holstein) und Herrn *Dr. Horst Lindhofer* (Trion Pharma) danke ich für die wissenschaftliche Unterstützung, Diskussion und Interpretation gemeinsamer Daten und Projekte.

## Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/ Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Dr. med. Philipp Kiewe