

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen
Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Ch. Marsch

**Morphologische Details an Sentinel-Lymphknoten-Biopsien von Patienten
mit malignem Melanom und deren Prognoserelevanz**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Daniel Bethmann
geboren am 26.02.1983 in Halle (Saale)

Gutachter/Gutachterin:
Prof. Dr. Wolfgang Christian Marsch (Halle/Saale)
Prof. Dr. Michael Tronnier (Hildesheim)
Prof. Dr. Dorothee Nashan (Dortmund)

Eröffnung des Promotionsverfahrens: 04.11.2014
Öffentliche Verteidigung: 24.02.2015

In großer Liebe und Dankbarkeit meiner Familie gewidmet.

Referat

Das maligne Melanom bedingt 90% der Hautkrebsmortalität und nimmt an Inzidenz stetig zu. Als Prognoseparameter dient neben klinischen Merkmalen die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie (SLKB), eine weitreichend etablierte, jedoch kontrovers diskutierte Methode zur frühzeitigen Identifizierung klinisch okkult Metastasen in den regionalen Lymphknoten. Diverse histologische Parameter und Klassifikationen wurden entworfen, um die Prognose der Patienten anhand des SLK möglichst exakt zu schätzen. Jedoch steht eine abschließende Bewertung und vergleichende Gewichtung der Parameter aus. Wir verglichen den SLK-Status (Melanombefall ja/nein) und 5 histologische Parameter (S-, Dewar- und Rotterdam-Klassifikation, intra- sowie extrakapsulärer Tumorbefall) auf ihren prädiktiven Wert hinsichtlich lokalrezidivfreiem (LRFS) und krankheitsfreiem Überleben (DFS) anhand von 346 Patienten nach SLKB mit bekanntem klinischem Verlauf. Weiterhin postulierten wir zur Verbesserung der Prognoseprädiktion ein Modell der dreidimensionalen Abbildung der intranodalen Tumorarchitektur. Alle SLK wurden in der Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie Halle (Saale) entnommen und detailliert histologisch analysiert. Nach der Identifikation von fünf Confoundern mittels kausaler Graphen (DAGs) wurden mittels multivariabler Cox-Regression die statistischen Zusammenhänge ermittelt. C-Indizes wurden zur Gewichtung der Parameter untereinander eingesetzt. 86 Patienten (24,9%) zeigten Mikrometastasen im SLK. Hochprädiktive Marker für beide Zielgrößen waren: der SLK-Status (HR 2,44 für LRFS und 1,98 für DFS), S III (3,59 respektive 2,88), Dewar IV-V (3,87 resp. 3,17), Rotterdam III (3,89 resp. 3,06) sowie der extrakapsuläre Befall (3,24 resp. 2,34). Der intrakapsuläre Befall spiegelte vorwiegend die lokoregionäre Tumorausbreitung (HR 2,15) wieder. Ein Inkrement der Tumoreindringtiefe sowie der Tumorgröße von 500µm waren mit einer moderaten Steigerung des Risikos assoziiert (HR 1,25 resp. 1,06 für LRFS; 1,24 resp. 1,07 für DFS), jedoch war die Präzision der Ergebnisse sehr hoch. Das postulierte 3D-Modell der Tumorarchitektur verbesserte die Prognoseprädiktion nicht. Der Einsatz von C-Indizes zur Gewichtung der Parameter untereinander erbrachte kein verwertbares Resultat. Summa summarum spiegelt kein einzelner histologischer Parameter die Konfiguration des Tumorbefalls sowie die Prognose der Patienten vollständig wieder. Eine Zusammenfassung von validierten Parametern des SLK zusammen mit klinischen- (Alter, Geschlecht) sowie Primärtumordaten (Breslow-Index, Ulzeration) könnte eine weitere Verbesserung der Prognoseprädiktion erzielen. Zur Validierung dieser Scores bedarf es großer, prospektiv randomisierter Studien.

Bethmann, Daniel: Morphologische Details an Sentinel-Lymphknoten-Biopsien von Patienten mit malignem Melanom und deren Prognoserelevanz, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 66 Seiten, 2014

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE	IV
1. EINLEITUNG	1
1.1 MALIGNES MELANOM	1
1.2 SENTINEL-LYMPHKNOTEN	2
1.3 SENTINEL-LYMPHKNOTEN-BIOPSIE	3
2. ZIELE	6
3. MATERIAL UND METHODIK	7
3.1 BETREUUNG UND NACHSORGE	7
3.2 AUSSCHLUSSKRITERIEN	7
3.3 SENTINEL-LYMPHKNOTEN-BIOPSIE	8
3.4 IMMUNHISTOCHEMISCHE PROZESSIERUNG	9
3.5 HISTOPATHOLOGISCHE BEFUNDUNG	10
3.6 ERFASSUNG DER KLINISCHEN, PRIMÄRTUMOR- UND SLK-DATEN	11
3.7 HISTOPATHOLOGISCHE PARAMETER UND KLASSIFIKATIONEN	13
3.7.1 SENTINEL-LYMPHKNOTEN-STATUS	13
3.7.2 TPD UND S-KLASSIFIKATION	13
3.7.3 DEWAR-KLASSIFIKATION	15
3.7.4 KORNGRÖSSE UND ROTTERDAM-KLASSIFIKATION	17
3.7.5 INTRA- UND EXTRAKAPSULÄRER BEFALL	18
3.8 STATISTISCHE ANALYSE	19
4. ERGEBNISSE	21
4.1 DESKRIPTIVE STATISTIK	21
4.1.1 KLINISCHE UND PRIMÄRTUMOR-MERKMALE	21
4.1.2 SENTINEL-LYMPHKNOTEN-MERKMALE	23

Inhaltsverzeichnis

4.1.3 MERKMALE DER KOVARIATEN	25
4.2 INDUKTIVE STATISTIK	28
4.2.1 UNIVARIABLE UND MULTIVARIABLE EFFEKTSCHÄTZUNG	28
4.2.2 ÜBERLEBENSZEITANALYSE	31
4.2.3 C-STATISTIK	31
5. DISKUSSION	34
5.1 KLINISCHE UND PRIMÄRTUMOR-MERKMALE	34
5.2 PROGNOSEPARAMETER DES SLK	35
5.2.1 SENTINEL-LYMPHKNOTEN-STATUS	35
5.2.2 TPD UND S-KLASSIFIKATION	37
5.2.3 DEWAR-KLASSIFIKATION	39
5.2.4 KORNGRÖSSE UND ROTTERDAM-KLASSIFIKATION	39
5.2.5 INTRAKAPSULÄRER BEFALL	42
5.2.6 EXTRAKAPSULÄRER BEFALL	44
5.2.7 PosNCutRate und 3D-MODELL DER TUMORARCHITEKTUR	46
5.3 LIMITATIONEN UND STÄRKEN DER STUDIE	46
5.4 VORSCHLAG FÜR EIN ROUTINEPROTOKOLL ZUR SLK-BEGUTACHTUNG	48
6. ZUSAMMENFASSUNG	49
7. LITERATURVERZEICHNIS	51
8. THESEN	65
ANHANG	

Abkürzungen und Symbole:

5-JÜ	5-Jahres-Überleben
10-JÜ	10-Jahres-Überleben
95% CI	95%-Konfidenzintervall
AJCC	American Joint Committee on Cancer
CLR	confidence limit ratio
cm	Zentimeter
DAG	directed acyclic graphs (kausale Graphen)
DFS	disease free survival (Krankheitsfreies Überleben)
EKA	extrakapsuläre Tumorausbreitung
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
HE	Hämalaun- & Eosin-Färbung
HR	Hazard Ratio
KM	Kaplan-Meier-Methode
LK	Lymphknoten
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
MM	malignes Melanom
N	Anzahl
LRFS	local recidive free survival (Lokalrezidivfreies Überleben)
OS	overall survival (Gesamtüberleben)
P25	25%-Quantil
P75	75%-Quantil
SLK	Sentinel-Lymphknoten
SLKB	Sentinel-Lymphknoten-Biopsie
TPD	tumor penetrative depth (Tumoreindringtiefe)
\tilde{x}	Median
\bar{x}	Mittelwert

1. Einleitung

1.1 Malignes Melanom

Das maligne Melanom (MM) ist ein bösartiger Tumor des melanozytären Zellsystems, das sich überwiegend an der Haut, seltener am Auge und an den Hirn- und Schleimhäuten manifestiert. Es entsteht durch Mutationen in Onkogenen und Tumorsuppressorgenen, die überwiegend durch UV-Strahlung induziert werden. Risikofaktoren sind eine große Zahl von melanozytären Nävi, schwere und häufige Sonnenbrände in der Kindheit, helle Hauttypen (Typ I und II) sowie Immundefekte (hereditär, medikamentös oder durch eine HIV-Infektion). Polygene Erbfaktoren führen bei etwa 5-10% der MM zur familiären Häufung [1-3].

Die Inzidenz des Melanoms ist am höchsten bei stark sonnenexponierten hellhäutigen Bevölkerungsgruppen und zeigt eine stetige Steigerung in den letzten 3 Jahrzehnten. Damit zählt es zu den Malignomen mit der höchsten Zuwachsrate [2,4]. Hauptgrund dafür ist die Umstellung der Freizeit- und Urlaubsgewohnheiten mit deutlich vermehrter UV-Exposition in den letzten 5-6 Dekaden [3]. Die meisten Melanome werden im 50.-60. Lebensjahr diagnostiziert. Das früher vermutete gehäufte Auftreten bei Frauen kann heute nicht bestätigt werden [2]. Männer haben eine deutlich schlechtere Prognose [5].

Obwohl das Melanom nur 10% der Hautkrebsdiagnosen ausmacht, ist es für ca. 90% der Hautkrebsmortalität verantwortlich [6]. Es besteht eine frühzeitige Tendenz zur überwiegend lymphogenen Metastasierung. Tumorstadien mit Fernmetastasen sind trotz neuer Behandlungsmethoden (CTLA-4-Antikörper Ipilimumab, BRAF-Inhibitor Vemurafenib) immer noch unzureichend therapierbar [2,7-8]. Eine zeitlich beschränkte Tumorprogression ist zwar zu erreichen, jedoch keine Heilung. Bedingt durch die exponierte Lage an der Haut kann die (Verdachts-) Diagnose zumeist klinisch bzw. gestützt durch die Dermatoskopie gestellt werden. Goldstandard ist die histologische Untersuchung.

Die Therapie des Melanoms erfolgt primär chirurgisch durch die Exzision des Primärtumors und stadienabhängig gegebenenfalls nachgeschalteter Lymphknoten [1,4,9]. Die Prognose in klinisch lokalisierten Stadien (American Joint Committee on Cancer (AJCC) Stadium I-II) [10] ist mit 85-95% in Bezug auf das 5- und 10-Jahres-Überleben (5-JÜ/10-JÜ) sehr gut, die von Patienten mit Fernmetastasen (AJCC IV; 45-65% 5-JÜ und 12% 10-JÜ) deutlich schlechter [6,11-15]. Prognosebestimmend ist die zum Operationszeitpunkt klinisch vielfach schwer zu beurteilende Metastasierungssituation. Während ein Großteil der Melanompatienten, bei denen eine Metastasierung noch nicht stattgefunden haben dürfte, dauerhaft kein Rezidiv erleidet und durch die Operation gleichsam „geheilt“ werden kann, treten bei etwa 30% der Patienten im Verlauf Rezidive in Form von Metastasen auf. Mittel der Wahl zur prognostischen Beurteilung ist die Wächter-Lymphknoten-Biopsie [3].

1.2 Sentinel-Lymphknoten

Schon vor über 140 Jahren äußerte sich Rudolf Virchow über die „materielle“ Ausbreitung und über mehrere Lymphknoten-Stationen durchlaufende schrittweise Progression von Karzinomen [16]. Um 1900 wurde begonnen, detaillierte Kenntnisse über die Lymphabflusswege des Menschen mittels Farbstoffmarkierung, zunächst an Leichenpräparaten, später in vivo, zu sammeln. Zuerst dienten diese jedoch der topographisch-anatomischen Ermittlung und weniger der klinischen Bedeutung einer lymphogenen Metastasierung [17]. Dies änderte sich in den 1940er Jahren zunehmend, als Gray in einer Publikation über Lymphgefäße [18] betonte, dass die metastatische Durchsetzung einer regionären Filterstation mit dem Befall selektiver LK beginne.

Der Begriff **Wächter-Lymphknoten** (fortan: Sentinel-Lymphknoten, SLK) wurde erstmals von Gould et al. 1960 [19] und Cabañas 1977 [20] durch Untersuchungen zur operativen Entfernung von Parotis- bzw. Peniskarzinomen geprägt. Er bezeichnet den Lymphknoten, der wie ein Vorposten oder Wächter der Gesamtgruppe regionärer LK vorgelagert ist und als erster den vom Tumor wegführenden Lymphstrom aufnimmt und filtert. Schon damals empfahlen die Autoren eine intraoperative Schnellschnittuntersuchung dieses LK zur Indikationsstellung einer kompletten Lymphadenektomie der regionären LK-Station (nach [17]).

Um regionäre lymphogene Melanommetastasen frühzeitig erfassen und entfernen zu können, wurde in den folgenden Jahren bei vielen Patienten, auch im klinischen Stadium 1, eine elektive Lymphknotendisektion (ELKD) durchgeführt, d.h. die radikale Entfernung aller klinisch unauffälligen regionären LK [21-22]. Bei etwa 20% dieser LK fanden sich Mikrometastasen, d.h. ausschließlich histologisch diagnostizierbare Tumordinfiltrate [23]. Die ELKD ist jedoch mit einer ausgeprägten Morbidität behaftet: Komplikationsraten von 15 bis über 50% sind beschrieben [24-31]. Postoperativ treten prolongierte Lymphorrhoeen, Serome und Wundheilungsstörungen auf [27,32-33], an den Extremitäten kommt es zu Lymphödemen und im Kopf-Hals-Bereich zu Nervenläsionen, chronischen Schmerzen sowie großen kosmetisch störenden Narben [34]. Häufig werden auch aufgrund fehlender Selektivität oder anatomischer Variabilität nicht die betroffenen LK entfernt [21]. Hinzu kam, dass mehrere prospektiv randomisierte Studien in den 1980er Jahren [35-38] keinen Überlebensvorteil der Patienten mit ELKD gegenüber denen ohne Operation nachweisen konnten [21]. Zusammenfassend erhielten somit etwa 80% der Melanompatienten einen ausgeprägten nebenwirkungsreichen Eingriff, obwohl dieser keinen prognostischen Nutzen brachte.

1.3 Sentinel-Lymphknoten-Biopsie

Die genannten Nachteile der ELKD förderten die Suche nach einer Methode, um abgesiedelte Tumorzellen in Lymphabflusswegen einfach, sicher und nebenwirkungsärmer zu erfassen. Es ist ein Verdienst von Morton et al., dass 1992 das **Sentinel-Lymphknoten-Prinzip**, zu der Zeit schon beim Mammakarzinom etabliert, auf das maligne Melanom übertragen wurde [22]. Es stützt sich auf die Annahme, dass es immer einen oder wenige LK gibt, welche/r die aus einem Tumor per Lymphabstrom freigesetzten Tumorzellen primär aufnimmt. Durch dessen selektive Entnahme, genannt **Sentinel-Lymphknoten-Biopsie** (SLKB), und histologische Beurteilung lässt sich der regionäre lymphatische Metastasierungsstatus des Patienten sicher bestimmen ohne weitere LK untersuchen zu müssen [17]. Das bedeutet, dass bei einem metastasenfrem SLK die Metastatenfreiheit für alle nachgeschalteten LK der Region angenommen wird [39]. Technische Verbesserungen mündeten 2000 in den sog. Augsburg Consensus [40], der die Basis für die heutige Anwendung der SLK-Biopsie bildet.

Der Sentinel-LK-Status (Melanom-Befall ja/nein; fortan SLK-Status) ist neben dem Breslow-Index des Primärtumors der prognostisch wichtigste Marker beim Melanom [11-13,31] und integraler Bestandteil des AJCC-Staging-System [10] sowie der AWMF-Leitlinie „Malignes Melanom“ [3]. Abhängig von Prognosefaktoren des Primärtumors wie Breslow-Index und Ulzeration haben 14-33% der Melanompatienten SLK-Mikrometastasen [12,14,41]. Patienten mit negativem SLK-Status haben im Allgemeinen ein exzellentes 5-JÜ von 90-95%, wohingegen ein positiver Sentinel-Status mit einem deutlich reduzierten 5-JÜ von 50-65% assoziiert ist [10-12,14,42]. Bei Tumorbefall des SLK werden dem Patienten eine radikale lokale LK-Ausräumung sowie eine adjuvante Therapie empfohlen. Bei einem tumorfreien SLK-Status kann von weiteren operativen Maßnahmen abgesehen werden [43].

Die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie ist heute eine weitgehend akzeptierte und präzise diagnostische Prozedur zur Primärversorgung von Patienten mit einem malignem Melanom ohne klinische Anzeichen einer regionalen oder Fern-Metastasierung [42,44]. Sie ist minimal invasiv und von hoher Sensitivität und Spezifität [39]. Sie vermag bei Patienten mit klinisch okkulten LK-Metastasen, notwendige und ggf. prognoseverbessernde Therapien zu begründen sowie bei histopathologisch SLK-negativen Befunden eine nicht evidenzbasierte Therapie zu vermeiden [6,45-46].

Trotz allem ist die Methode nicht nebenwirkungsfrei und ihr prognostischer Einfluss wird gar weiterhin kontrovers diskutiert [47-48]. Mehrere Studien postulieren prädiktive Effekte abhängig vom histologisch erfassten Befallsmuster auf das lokalrezidivfreie- (LRFS) und das krankheitsfreie Überleben (DFS). Eine Übersicht bietet **Tabelle 1**.

Tab. 1: Kriterien der SLK-Histologie mit postuliertem prädiktivem Wert für LRFS/DFS.

Klassifikation	N _{Studien}	N _{SLK+}	Follow-Up (\tilde{x})	Literatur
SLK-Status	6	39-1080	23-72 Monate	[11-12,15,44,49-50]
TPD / S-Klassifikation	8	26-217	30-48 Monate	[51-58]
Dewar-Klassifikation	3	77-951	30-37 Monate	[44,51,53]
Tumorgröße / Rotterdam-Kl.	8	77-1080	30-48 Monate	[44,51,55-57,59-61]
Intrakapsulärer Befall	6	98-606	29-50 Monate	[55-56,62-65]
Extrakapsulärer Befall	6	79-169	21-40 Monate	[56,64-68]

Abkürzungen: TPD: tumour penetration depth (Tumoreindringtiefe); N_{Studien}: Anzahl an Studien; N_{SLK+}: Anzahl an Patienten mit SLK-Melanombefall.

Ein Einfluss auf das Gesamtüberleben (OS) wird von der überwiegenden Zahl der Studien nicht festgestellt [44,50-51,53-55,65,69]. Häufig sind jedoch die vorangegangenen Untersuchungen in ihrer prognostischen Aussagekraft limitiert. Dies hat mehrere Ursachen:

Erstens, viele der Studien sind *multizentrisch* angelegt, um eine große Fallzahl und die damit einhergehende statistische Power zu erreichen. Dies führt jedoch zu einer *deutlichen Heterogenität der Daten*, z.B. durch multiple Untersucher oder variierende Protokolle der histologischen Evaluation, und *mindert* wiederum die *statistische Aussagekraft*. Ein *hochstandardisierter, monozentrischer Ansatz* wäre zu bevorzugen.

Zweitens, es wurden häufig *nur Einzelparameter analysiert*. Neben dem SLK-Status ist dessen *Befallsmuster* jedoch sehr heterogen: es reicht von einzelnen isolierten Melanomzellen bis zur vollständigen Destruktion des Lymphknotenparenchyms durch Tumorgewebe [14]. Eine Vielzahl von Parametern und Klassifikationen, von der *Tumorgröße* [51,55,70-71], der *Tumoreindringtiefe* [44,55,72-74] und dem *Streuungsmuster* [44,75] bis zum Nachweis von Melanomzellen *intrakapsulär* [55-56] und *extrakapsulär* [56,76], wurden entwickelt. Daher ist es nicht verwunderlich, dass bis heute *keine Klassifikation* etabliert werden konnte, *die den SLK-Befall optimal abbildet*. Auch fehlt bis heute eine erschöpfende Ermittlung der wichtigsten Merkmale mit deren *vergleichender Gewichtung*.

Drittens, die bisherigen Studien untersuchten *mannigfaltige Endpunkte*, darunter fernmetastasenfreies Überleben oder die Positivität von Lymphknoten distal des SLK. Aufgrund der primär lokoregionären Streuung des MM wäre nach heutigem Wissenstand eine *Fokussierung auf die Endpunkte „lokalrezidivfreies Überleben“* zur Beurteilung der lokalen Streuung und *„krankheitsfreies Überleben“* zur Beurteilung des gesamten Krankheitsverlaufes

Einleitung

zu fordern, um die Lebensqualität der Patienten zu verbessern. Eine Orientierung auf das OS erscheint deshalb eher nachrangig.

Zuletzt wird die *Tumormasse*, sowohl sonographisch als auch histologisch, *zweidimensional erfasst*. Eine drei-dimensionale Aufnahme ist derzeit zeit- und kostentechnisch nicht rational. Eine behelfsweise Annäherung an einen *3D-Parameter*, gewonnen *aus den gemeinhin analysierten 2D-Parametern der Histologie*, könnte die statistische Präzision weiter verbessern.

2. Ziele

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, folgende Fragen zu beantworten:

Erstens, bieten der SLK-Status sowie fünf weitere histopathologische Kriterien des SLK einen prognostischen Ausblick auf das lokalrezidivfreie- (LRFS) und das krankheitsfreie Überleben (DFS) beim malignen Melanom?

Zweitens, wie groß sind die Unterschiede zwischen den Kriterien und lassen sich diese gegeneinander gewichten?

Drittens, lässt sich aus den routinemäßig ermittelten Daten zur SLK-Tumorgröße eine Annäherung an die 3-dimensionale Tumorarchitektur im SLK ableiten und damit die Prognoseprädiktion weiter verbessern?

3. Material und Methodik

3.1 Betreuung und Nachsorge

Die vorliegende Arbeit wertet die Daten von 346 an der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Zeitraum vom 17.02.2004 bis 06.11.2012 (closing date) behandelten Patienten mit primärem malignem Melanom der Haut, bei denen eine SLKB erfolgte, aus. Alle Patienten wurden über den gesamten Beobachtungszeitraum in der Ambulanz für onkologische Dermatologie betreut. Das MM wurde entweder in der Universitätshautklinik primär diagnostiziert oder die Diagnosestellung inklusive der Primärtumor-Exzision erfolgte extern und die Patienten stellten sich in deren Folge zur SLKB vor. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung waren alle Patienten klinisch im Tumorstadium IB bis IIC des AJCC (2002), d.h. ohne Zeichen einer regionalen- oder Fernmetastasierung. Das initiale Staging beinhaltete in der Regel eine klinische Untersuchung mit Lymphknoten-Palpation und -Sonographie sowie ein präoperatives Staging mittels Bildgebung der viszerale Organe. Alle Patienten erhielten eine SLKB in der Universitätshautklinik. Die Nachsorgeuntersuchungen beinhalteten abhängig von Tumorausbreitung und Risikofaktoren eine klinische Untersuchung alle 3 Monate, eine LK-Sonographie alle 6-12 Monate sowie jährlich eine Bildgebung der viszerale Organe entsprechend der jeweilig gültigen Therapieleitlinie.

3.2 Ausschlusskriterien

Sechs von initial 352 Studienpatienten wurden von der Auswertung ausgeschlossen: Zum einen fünf Patienten aufgrund einer Primärtumorlokalisation im Kopf-/Hals-Bereich. Melanome in diesem Areal sind bekannt für Ihre Inhomogenität und unvorhersehbare Lymphabflusswege: 1) der Lymphabfluss ist mittels Szintigraphie nur schwer zu visualisieren, weil die SLK oft in unmittelbarer Nähe des Injektionsortes liegen; 2) die Tracer, v.a. der blaue Farbstoff, wandern rapide und lassen sich somit unzuverlässiger detektieren als im Rumpf- und Extremitätenbereich; 3) die SLK sind zum Teil sehr klein und an schwer zugänglichen Stellen, wie in der Glandula parotis, lokalisiert; 4) die Anzahl der SLK ist hoch und sie können sich in mehr als einem Lymphabstromgebiet wiederfinden [77-78]. Es ist beschrieben, dass der Lymphabfluss hier in bis zu 84% der Fälle von den klinisch vorhergesagten Bahnen abweicht [79-80], zum Teil bei demselben Patienten in zeitlich versetzten Messungen [81]. In ca. 10% der Fälle verläuft er bilateral [78,82]. Die Rate von falsch-negativen Resultaten beträgt im Median 20,4 % [83]. Um die Treffsicherheit zu erhöhen, wird empfohlen, die SLKB im Kopf-/Hals-Bereich ausschließlich spezialisierten Chirurgen zu überlassen [84]. Zur Schaffung eines homogenen Patientenguts richteten wir unseren Fokus auf Melanome im Bereich von Rumpf

und Extremitäten. Des Weiteren wurde ein Patient von der Auswertung ausgeschlossen, da es am closing date nur Daten zur Primärtumordiagnostik/-therapie gab, jedoch noch kein verwertbares Nachbeobachtungsintervall. Die verbliebenen 346 Patienten wurden zur Auswertung herangezogen.

3.3 Sentinel-Lymphknoten-Biopsie

Gemäß aktueller Empfehlungen der AWMF [3] und EORTC [1] wurde die Indikation zur SLKB in Abhängigkeit von der Eindringtiefe des Primärtumors nach Breslow gestellt. Diese wurde, wenn möglich, präoperativ sonographisch bestimmt, um die operative Entfernung von Primärtumor und Sentinel-LK in einer Sitzung zu ermöglichen. Bei auswärtig diagnostizierten und exzidierten Melanomen entschied man auf Basis der vorliegenden histologischen Befunde. Empfohlen wurde die SLKB ab einer Tumordicke nach Breslow von $\geq 1,0\text{mm}$ respektive $<1,0\text{mm}$ beim Vorliegen zusätzlicher Risikofaktoren wie Alter $<40\text{a}$, Clark-Level VI/V, Ulzeration oder Regression des Primärtumors [46,85-91]. Die operative

Entfernung von Primärtumor oder SLK erfolgte durch einen erfahrenen Dermatochirurgen des Universitätsklinikums Halle. Präoperativ wurde der SLK mittels „lymphatic mapping“ markiert [48,89,92-93]. Dazu wurde eine Tracersubstanz ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markiertes Eiweißkolloid) peritumoral injiziert (Abb. 1) und anschließend mittels Lymphabfluss-Szintigrafie [6,94] die Zahl und der Verlauf der efferenten Lymphgefäße sichtbar gemacht (Abb. 2). Nach Anreicherung der Tracersubstanz im SLK wurde dieser mittels einer Gammakamera lokalisiert [95-98] und die Lage an der Haut markiert. Einige Stunden oder einen Tag nach der Markierung erfolgte zunächst die Exzision des Primarius.

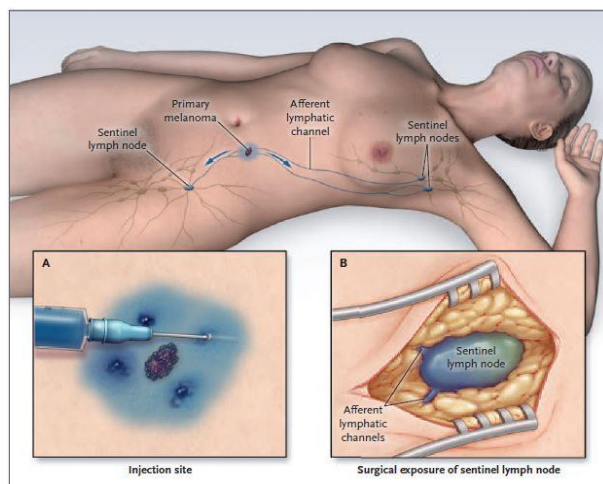


Abb. 1: Lokalisation des SLK (aus [2]).

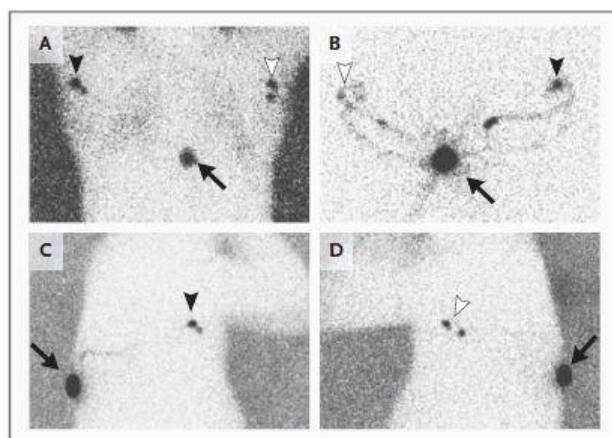


Abb. 2: Lymphatic mapping eines Melanoms am mittleren Rücken (aus [6]).

Der Sicherheitsabstand richtete sich nach dem Breslow-Index: 1cm Abstand bei Tumoren < 2,0 mm, 2 cm bei Tumoren $\geq 2,0$ mm [99]. Danach wurde im markierten Hautareal im Verlauf der Hautspaltlinien ein wenige Zentimeter langer Schnitt gesetzt und mittels der Gammasonde sämtliche Sentinel-Lymphknoten identifiziert. Nach Ligatur der afferenten sowie efferenten Lymphgefäße wurden die SLK extirpiert. Alle entnommenen Lymphknoten wurden sofort in 4% Formalin fixiert. Bei Tumornachweis in mindestens einem der SLK wurde im Anschluss die Möglichkeit einer kompletten Lymphadenektomie sowie adjuvanter systemischer Maßnahmen mit dem Patienten erörtert. Bei Negativität des SLK erfolgten keine unmittelbaren weiteren operativen Maßnahmen.

3.4 Immunhistochemische Prozessierung

Die immunhistochemische Aufarbeitung erfolgte standardgemäß durch das dermatohistopathologische Labor der Universitätsklinik Halle. Nach Eingang des in 4-% Formalin fixierten Präparats und Vergabe einer Identifikationsnummer pro SLK erfolgte der Zuschnitt. Dabei wurde bei Präparaten ab ca. Erbsengröße der Lymphknoten nach einem standardisierten Protokoll mehrfach entlang des größten Durchmessers geteilt, um möglichst viele repräsentative Schnittebenen zu gewinnen. Kleinere Präparate wurden ohne Zuschnitt weiter aufgearbeitet. Im Anschluss erfolgte die Einbettung (Shandon Excelsior, Thermo Electron, Waltham, USA) über aufsteigende Alkohol- und Xylolbäder ins Paraffin (Paraplast, McCormick Scientific, Richmond, USA). Nach dem Guss in Paraffinblöckchen wurden nun mittels eines Rotationsmikrotoms (Jung RM2035, Leica, Wetzlar, Deutschland) und Einmalklingen (R35, Feather Safety Razor, Osaka, Japan) präparatetaugliche 5 μ m-Schnitte erzeugt. Diese wurden anschließend im Wasserbad bei 50°C auf Objektträger (für HE-Färbung: Elka Assistent, Glaswarenfabrik Karl Hecht, Sondheim, Deutschland; für Immunfärbungen: Superfrost Plus, Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen und danach wenige Minuten bei 48°C über einer Heizplatte angetrocknet. Pro Sentinel-LN wurde ein Minimum an 60 Anschnitten erzeugt, je $\frac{1}{3}$ für die späteren 3 Färbungen Hämalaun und Eosin (Hämalaun: Mayers Hämalaunlösung, Merck, Darmstadt, Deutschland; Eosin: Eosin-Y-Lösung mit Phloxin, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) (HE), MelanA (1:25 Verdünnung, Anti-Human MelanA, Clone A103, Dako, Glostrup, Dänemark) und HMB45 (1:50 Verdünnung, Anti-Human-Melanosome, Clone HMB45, Dako).

Nach 1-stündiger Inkubation der Objektträger bei 80°C (HE) bzw. 60°C (Immunfärbungen) (Thermocenter, SalvisLab, Rotkreuz, Schweiz) zum Abschmelzen von Paraffinresten folgte im nächsten Schritt die Färbung. Eine Mindestzahl von 20 Schnitten wurde mittels eines Färbeautomaten (Tissue Stainer TST 30, Medite, Burgdorf, Deutschland) zuerst mit Xylol

entparaffiniert, dann durch absteigende Alkoholreihen in Wasser überführt und schließlich mit Hämalaun und Eosin gefärbt. Zur Sicherung der Haltbarkeit folgte nun wieder die Entwässerung mittels aufsteigender Alkoholreihen und Xylol.

Die verbleibenden ≥ 40 Schnitte wurden bis zum 12.09.2007 manuell, danach mittels eines Immunfärbe-Vollautomaten (Benchmark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, USA) je zur Hälfte mit MelanA, zur Hälfte mit HMB45 inkubiert und danach ebenfalls in aufsteigenden Alkoholbädern und Xylol entwässert. Wir entschieden uns für ein Protokoll mit MelanA und HMB45, beide wesentlich spezifischer aber mit einer Sensitivitätslücke von je bis zu 20% gegenüber S-100 (hohe Sensitivität aber niedrige Spezifität), vor allem in Mikrometastasen [100-101].

Zum Abschluss wurden alle Schnittpräparate durch Abdeckgläschen versiegelt (Eindeckautomat Promounter RCM 2000, Medite; Eindeckmedium Pertex, Medite, Burgdorf, Deutschland) und standen nach einer kurzen Trockenzeit zur mikroskopischen Befundung zur Verfügung.

3.5 Histopathologische Befundung

Die primäre Befundung aller Schnitte erfolgte durch einen von 2 erfahrenen Dermatohistopathologen der Universitätsklinik Halle. Nach der Identifikation der Sentinel-Lymphknoten mit Mikrometastasen wurden die MelanA- und HMB45-Schnitte anschließend im Rahmen der vorliegenden Arbeit erneut eingehend histologisch auf Details nachuntersucht (Jenalumar, Carl Zeiss, Jena, Deutschland). Die tumorbefallenen Areale wurden fotografiert (Spot Insight QE 4.2, Diagnostic Instruments, Sterling Heights, USA; 6,3x Vergrößerung) und die quantitativen Parameter mittels einer Software (Spot Imaging Software 4.09; Diagnostik Instruments) vermessen.

3.6 Erfassung der klinischen, Primärtumor- und SLK-Daten

Aufgezählte Tumor- und Verlaufsdaten (**Tabelle 2**) wurden in pseudonymisierter Form aus dem Krebsregister der Ambulanz für onkologische Dermatologie mit den histologischen Parametern der SLK wie folgt ergänzt: Alter bei Erstdiagnose, Geschlecht, Breslow-Stadium, Ulzeration, Follow-Up-Zeit und Lokalisation des Primärtumors:

Tabelle 2: Erfasste klinische, Primärtumor- und SLK-Daten.

	Parameter	Ausprägung
Klinische- und Primärtumordaten	Primärtumor: Diagnosedatum	
	Primärtumor: Erst-OP-Datum	
	Primärtumor: MM ist Erstmalignom?	ja/nein
	Primärtumor: familiäres MM?	ja/nein
	Primärtumor: Körperseite	links, rechts, mittig
	Primärtumor: horizontale Tumorausdehnung X in mm	
	Primärtumor: horizontale Tumorausdehnung Y (90° zu X) in mm	
	Primärtumor: TNM nach Breslow	T1 ≤1,0mm, T2 1,01-2,0mm, T3 2,01-4,0mm, T4 >4,0mm
	Primärtumor: Clark Level	1 bis 5, unbekannt
	Primärtumor: histologischer Typ	SSM, NM, LMM, ALM, SH, MM kongenital, nicht klassifizierbar, nicht klassifiziert, sonstige
	Primärtumor: Regression?	ja/nein
	Primärtumor: MM auf Naevuszell-Naevus?	ja/nein
	Primärtumor: Wachstumsphase	horizontal, vertikal, unbekannt
	erstes lokoregionäres Rezidiv: Datum	
	erstes lokoregionäres Rezidiv: Art	Lokal, Satellit, in Transit, regionärer LK
erstes Fernrezidiv: Datum		

Tabelle 2 (Fortsetzung): Erfasste klinische, Primärtumor- und SLK-Daten.

	Parameter	Ausprägung
Klinische- und Primärtumordaten	erstes Fernrezidiv: Art	Fernmetastase Haut, Fernmetastase LK, Fernmetastase viszeral
	Tod: Datum	
	Tod: Ursache	MM, anderes Malignom, andere Krankheit, unbekannt
Histopathologische Daten des / der SLK	Anzahl entnommener SLK	1 bis 5
	Anzahl positiver SLK	1 bis 2
	Lokalisation	R-POP; L-POP; R-ING; L-ING; R-AX; L-AX; R-CUB; L-CUB; R-SC; L-SC; R-CERV; L-CERV; R-SONST; L-SONST
	größter Diameter X in µm	
	größter Diameter Y (90° zu X) in µm	
	maximale Korngröße X in µm	
	maximale Korngröße Y (90° zu X) in µm	
	Rotterdam-Klassifikation	1 <100 µm, 2 100 – 1000 µm, 3 >1000 µm
	Kapselinfiltration?	ja/nein
	extrakapsuläre Ausbreitung?	ja/nein
	maximale Tumoreindringtiefe (TPD) in µm	
	S-Klassifikation	1: TPD ≤300 µm, 2: TPD 301 - 1000 µm, 3: TPD >1000 µm
Dewar-Klassifikation	1 subcapsular, 2 combined, 3 parenchymal, 4 multifocal, 5 extensive	

Abkürzungen: OA/UA Ober-/Unterarm; OB/UB Ober-/Unterbauch; OS/US Ober-/Unterschenkel; SH Schleimhaut; SSM superfiziell spreitendes-; NM: noduläres-; LMM: Lentigo maligna-; ALM: akrolentiginöses Melanom; SH Schleimhaut; R rechts; L links, POP popliteal, ING inguinal; AX axillär; CUB kubital; SC supraklavikulär; CERV zervikal; SONST sonstige.

3.7 Histopathologische Parameter und Klassifikationen

Das histologische Befallsmuster der Sentinel-Lymphknoten ist sehr heterogen. Es reicht von einzelnen, isolierten Melanomzellen bis zum kompletten Ersatz des LK durch Tumorgewebe [63]. In den letzten zwei Jahrzehnten wurde eine Vielzahl von histopathologischen Parametern beschrieben, die einen Ausblick auf die Prognose der Melanompatienten erlauben. Der folgende Abschnitt beschreibt die in dieser Arbeit erfassten Parameter bzw. Klassifikationen. Bei Patienten mit mehr als einem positiven SLK wurde jeweils der maximale Wert pro Parameter zur Auswertung herangezogen.

3.7.1 Sentinel-Lymphknoten-Status

Der SLK-Status bezeichnet den Befall des Sentinels durch Melanomzellen und wurde beim Nachweis von ≥ 1 eindeutig mikroskopisch identifizierbaren Tumorzelle als positiv gewertet.

3.7.2 TPD und S-Klassifikation

Der Begriff „**tumor penetrative depth**“ (TPD) wurde von Scolyer et al. 2004 [74] eingeführt und basiert auf der Arbeit der Arbeitsgruppe um Hans Starz. Diese entwickelte 2001 eine graduelle Klassifikation der Sentinel-Mikromorphometrik [72] (**Abb. 3**, S0 bis S3), basierend auf der Kombination der folgenden Parameter:

- „**n**“ = Anzahl von 1 mm dünnen SLK-Anschnitte mit eindeutig (immuno-) histologisch detektierbaren Tumorzellen, und
- „**d**“ = maximale Distanz vom inneren Randsaum der LK-Kapsel bis zur am tiefsten liegenden Tumorzelle (TPD)

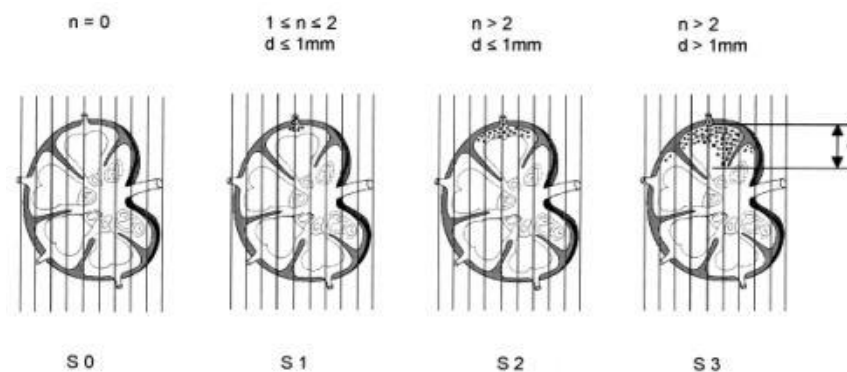


Abb. 3: Erfassung der (alten) S-Klassifikation (aus [72]).

Die TPD basiert auf der Annahme, dass die Ausbreitung von Melanomzellen zuerst über afferente Lymphgefäße in die subkapsulär gelegenen lymphatischen Sinus verläuft. Von hier erreichen Sie durch zentripetale Migration tiefere LK-Abschnitte. Die Tumorstreuung in die nachgeschalteten Lymphknoten vollzieht sich dann über efferente Gefäße des Lymphknoten zentrums. Eine zunehmende Distanz zur Kapsel entspricht somit einem weiter fortgeschrittenen Metastasierungsstadium [102]. Eine Aktualisierung und Vereinfachung der S-Klassifikation erfolgte 2004 [73]. Aus der Beurteilung der Tumoreindringtiefe (**Abb. 4**) in den SLK („d“) analog zu Starz aus 2001 ergeben sich 4 neue Klassen (**Tabelle 3**), erkennbar an der römischen Nummerierung. In der vorliegenden Arbeit kam diese aktualisierte Version zum Einsatz.

Tabelle 3: neue S-Klassifikation nach [73].

Klasse	Definition
S0	keine identifizierbaren Tumorzellen im SLK
SI	subkapsuläre Tumorzellen mit $d \leq 300 \mu\text{m}$
SII	$300 \mu\text{m} < d \leq 1000 \mu\text{m}$
SIII	$d > 1000 \mu\text{m}$



Abb. 4: Erfassung der tumor penetrative depth (Pfeil; MelanA, 6,3x Vergrößerung).

3.7.3 Dewar-Klassifikation

Dewar et al. publizierten 2004 eine Methode der Prognoseabschätzung basierend auf der mikroanatomischen Tumorzellokalisation innerhalb des Lymphknotens (**Tabelle 4** und **Abb. 5**, Ausprägungsformen in **Abb. 6**) [75]:

Tabelle 4: Dewar-Klassifikation nach [75].

Klasse	Definition
A subcapsular	Metastase auf subkapsuläre Sinus beschränkt
B combined	subkapsuläre und parenchymale Metastasen
C parenchymal	Metastase liegt vollständig im parakortikalen Teil des Parenchyms
D multifocal	multiple separate Foci (parenchymale Anteile ein Muss)
E extensive	jede Metastase >500 µm, jede extrakapsuläre Tumorausbreitung

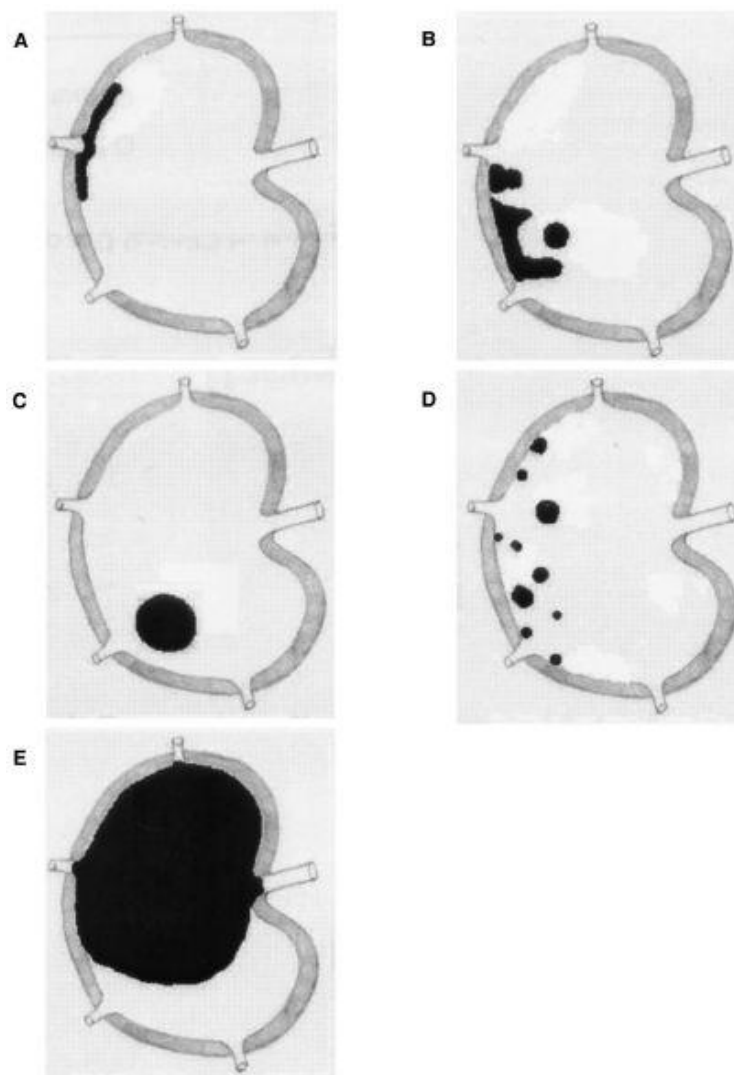
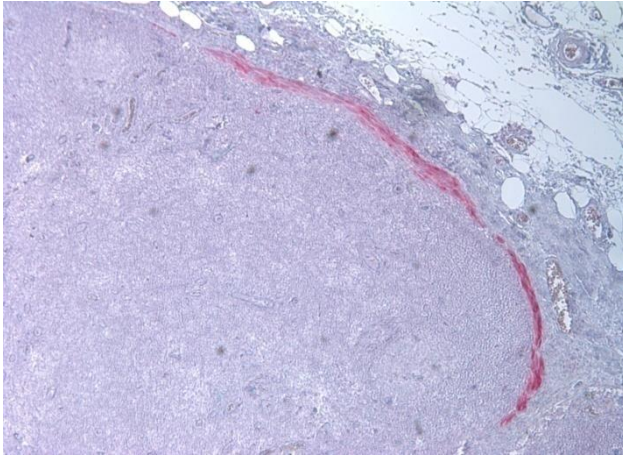


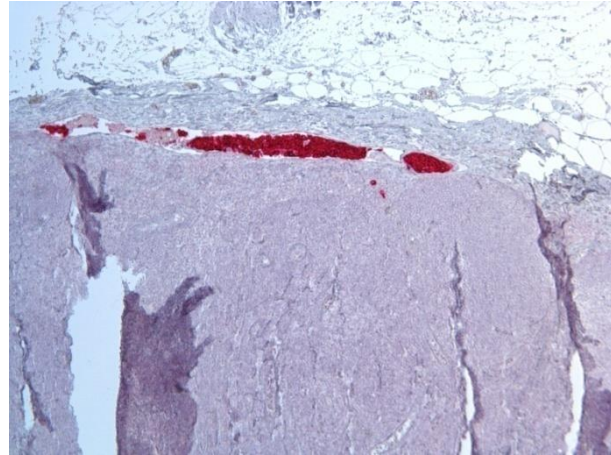
Abb. 5: Dewar-Klassifikation (aus [75]).

Material und Methodik

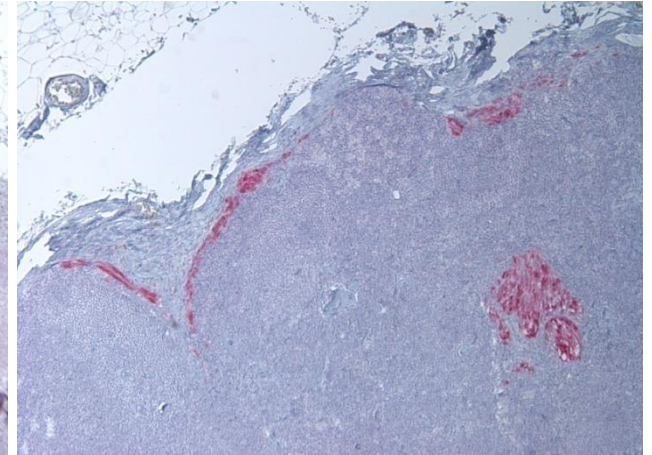
subcapsular¹



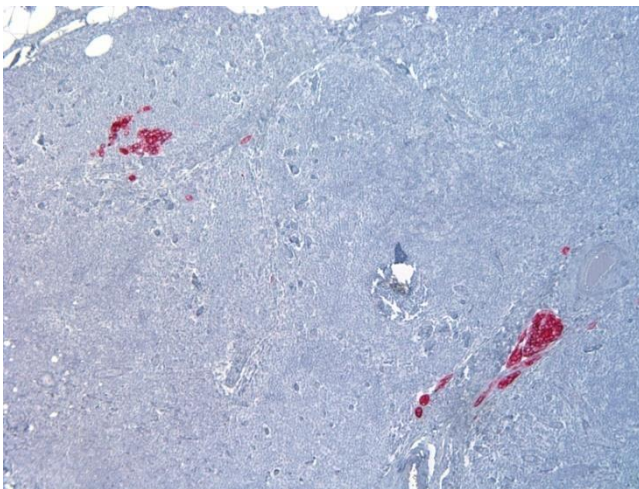
subcapsular (in den lymphat. Randsinus)²



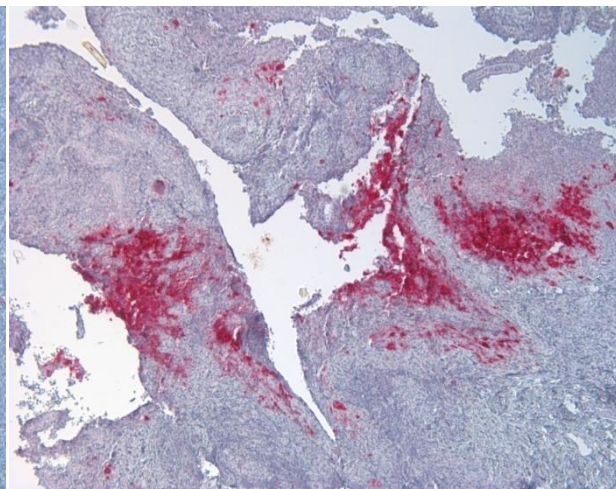
combined³



parenchymal⁴



multifocal⁵



extensive⁶

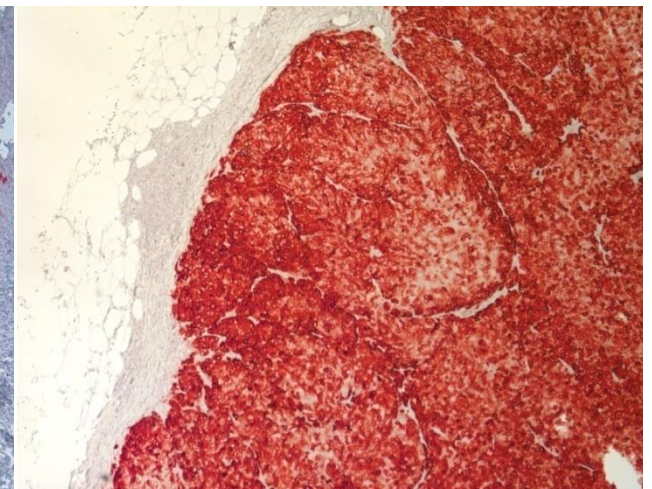


Abb. 6: Ausprägungsformen der Dewar-Klassifikation (MelanA^{1,5}/HMB45^{2-4,6}, 6,3x Vergrößerung).

3.7.4 Korngrösse und Rotterdam-Klassifikation

Eine Vielzahl von Studien widmete sich dem Einfluss der Tumormasse auf die Prognose der Melanompatienten (Übersicht in [42,44,103]). Nach Empfehlung der European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) - Melanoma Group aus 2009 [42] wurde in der vorliegenden Arbeit der maximale Durchmesser des größten zusammenhängenden Tumorzellhaufens als absoluter Wert (**Abb. 7**) und nach der Rotterdam-Klassifikation (**Tabelle 5**) [51] wie folgt erfasst:

Tabelle 5: Rotterdam-Klassifikation nach [51].

Klasse	Definition
1	größte Tumorlast < 100 µm, „Sub-Mikro-Metastasen“
2	größte Tumorlast 100 – 1000 µm
3	größte Tumorlast > 1000 µm

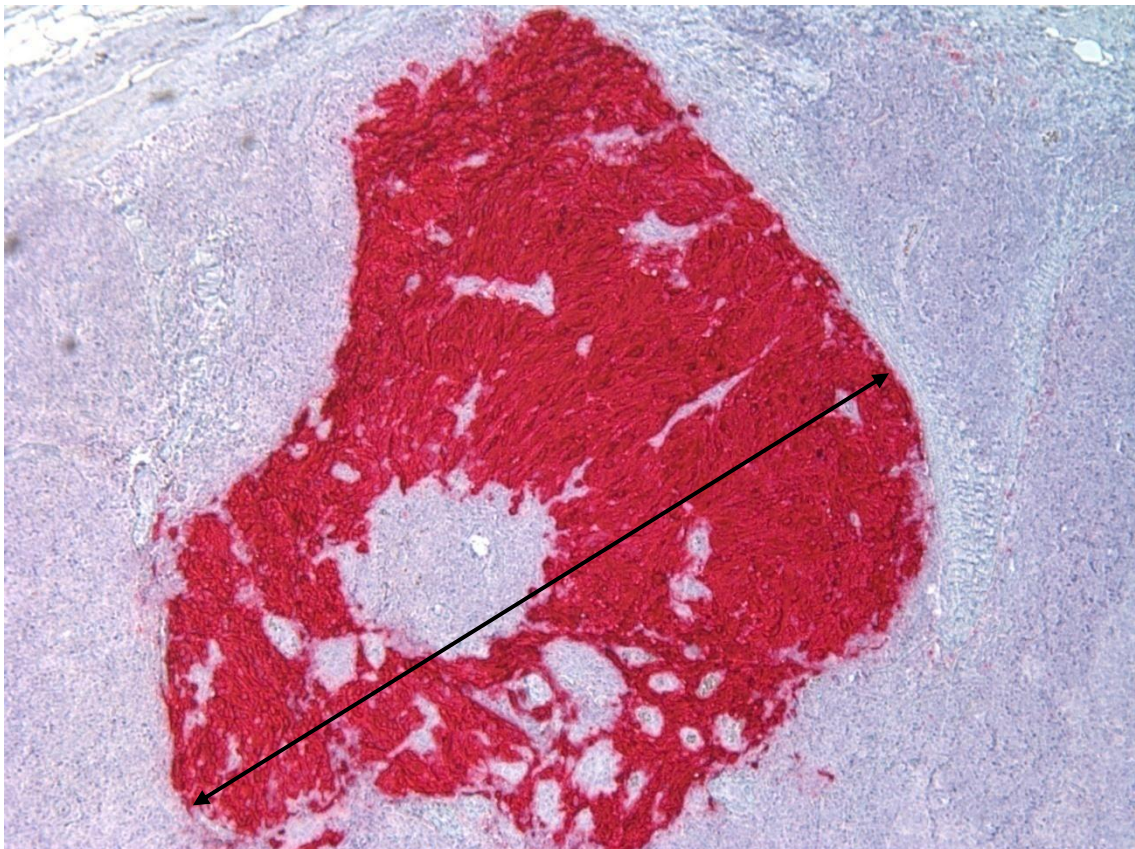


Abb. 7: Mikroskopische Bestimmung der Korngröße (MelanA, 6,3x Vergrößerung).

3.7.5 Intra- und Extrakapsulärer Befall

Der intrakapsuläre Befall sowie die extrakapsuläre Tumorausbreitung (EKA) sind prognostische Marker beim Melanom, die eine schlechte Prognose anzeigen. Es ist von einer potentiell aggressiveren Melanomspezies auszugehen, wenn diese die Fähigkeit besitzt, die LK-Kapsel enzymatisch aufzulösen und ihr Wachstum in diese bzw. darüber hinaus fortzusetzen. Wir definierten den Kapselbefall als das Vorhandensein von ≥ 1 eindeutig identifizierbaren Melanomzellen innerhalb der Lymphknotenkapsel [62] (**Abb. 8**) sowie den intrakapsulären Sinus, die EKA als die Lokalisation im extranodalen Fettgewebe [104]. Dazu zählten wir ebenfalls Zellen in den extrakapsulären Lymphgefäße (**Abb. 9**).

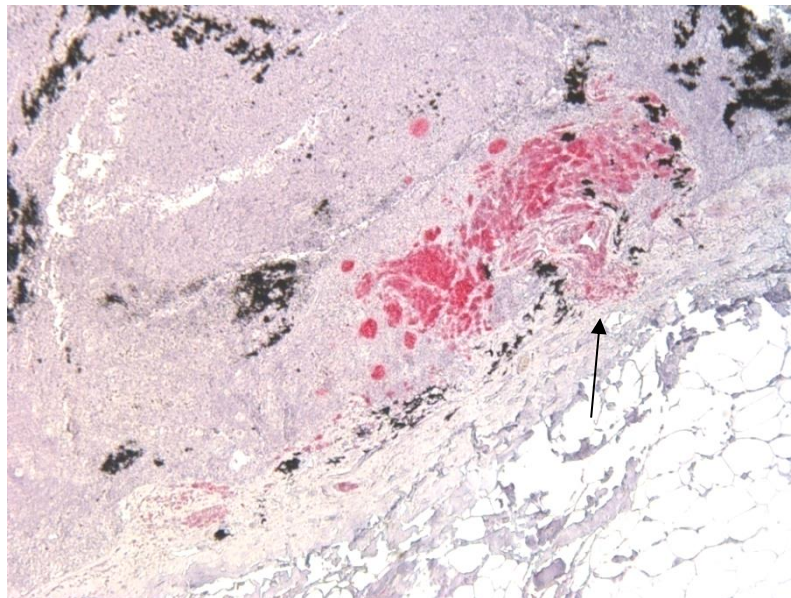


Abb. 8: Kapselinfiltration (MelanA, 6,3x Vergrößerung).

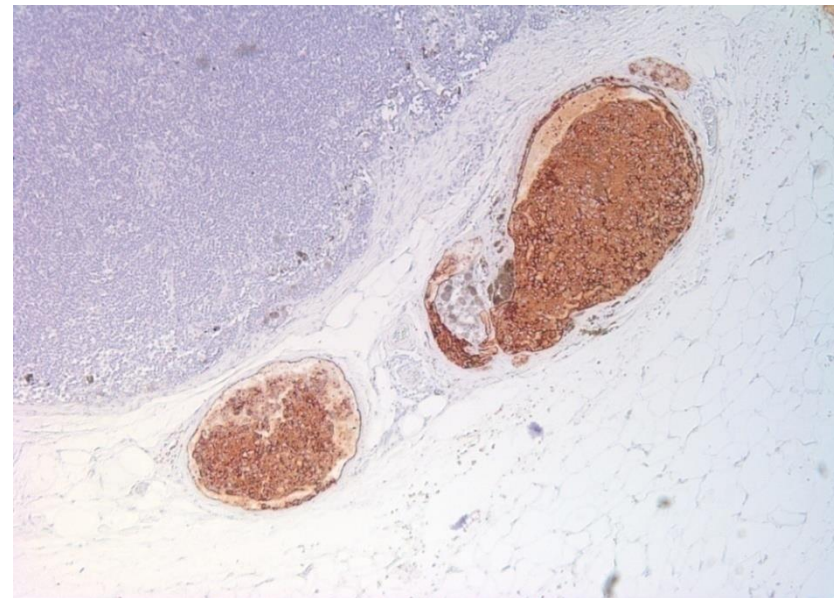


Abb. 9: Tumorkonglomerate in den perinodalen Lymphgefäßen (HMB45, 6,3x Vergrößerung).

3.8 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Klinische Epidemiologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Wir untersuchten zwei primäre Endpunkte: das **lokalrezidivfreie Überleben (LRFS)**, definiert als die Zeit von der Primärtumorexzision bis zum ersten lokoregionären Rezidiv (entweder an der Stelle des Primarius, als Satelliten- (bis 2cm entfernt) [1], in Transit- (> 2cm bis zum ersten drainierenden LK) [1] oder als regionale Lymphknotenmetastase) und das **krankheitsfreies Überleben (DFS)**, definiert als die Zeit bis zum ersten Rezidiv insgesamt, unabhängig ob lokoregionär oder weiter entfernt aufgetreten.

Die Überlebenszeitanalyse erfolgte mittels der Kaplan-Meier-Methode [105]. Zur Identifizierung von Störgrößen entwickelten wir kausale Diagramme (directed acyclic graphs [DAGs], **Abb. 10**) [106]. Dies sind graphische Hilfsmittel, um basierend auf apriori-Wissen die Zusammenhänge zwischen multiplen Expositionen und dem Outcome zu visualisieren [107]. Mittels einer Software (DAG Program v0.21, Sven Knüppel, <http://epi.dife.de/dag>) identifizierten wir ein minimal suffizientes Set an Störgrößen (Alter, Geschlecht, Breslow-Index, Ulzeration und Tumorlokalisation), für die wir adjustierten. Univariable und multivariable Cox Proportional-Hazards-Regression [108] wurde genutzt, um rohe und adjustierte Hazard Ratios (HR) sowie deren korrespondierende 95% Konfidenzintervalle (95% CI) zu schätzen. Wir nutzten das confidence limit ratio ($CLR = \frac{\text{oberes Limit des 95\% CI}}{\text{unteres Limit des 95\% CI}}$) als ein Maß für die Präzision der Effektmaße. Die Annahme eines proportionalen Risikos wurde mittels Schönfeld Residual Plots überprüft [109].

Die unterste Gruppe der S-, Dewar- und Rotterdam-Klassifikation enthielt nur eine geringe Anzahl an Patienten (S I: 6; Dewar I: 3; Rotterdam I: 16) sowie erwartungsgemäß keine (S I, Dewar I) oder nur eine sehr limitierte Zahl an Ereignissen (Rotterdam I: 1 Lokalrezidiv, 1 Fernmetastase). Um trotzdem aussagekräftige Effektmaße bestimmen zu können, nutzten wir anhand des zu erwartenden Risikos für diese Ereignisse breitere Kategorien: „S I-II“ aus Patienten in den Gruppen S I und S II, „Dewar I-III“ aus Dewar I, II und III, „Dewar IV-V“ aus Dewar IV und V, sowie „Rotterdam I-II“ aus Rotterdam I und II. Weiterhin analysierten wir das Risiko bei 500µm-Inkrementen von TPD und Tumorgröße und untersuchten die Hypothese, ob eine 3-dimensionale, ellipsoide Annäherung an die Tumorarchitektur im LK

$$\left(\frac{\pi}{4} * \left(\frac{\text{maximaler Diameter X des größten Kornes}}{\text{maximaler Diameter Y (90° zu X)}} \right) * \left(\frac{\text{Anzahl tumorbefallener Schnitte}}{\text{Anzahl Schnitte insgesamt}} \right) \right)$$

eine Verbesserung der Prognoseschätzung bewirkt. Zuletzt berechneten wir C-Indices, um alle evaluierten histopathologischen Parameter in Ihrer Prognosekraft gegeneinander zu gewichten. Alle statistischen Analysen wurden mittels SAS® (SAS Institute Inc., NC, USA) Version 9.3 vorgenommen.

Material und Methodik

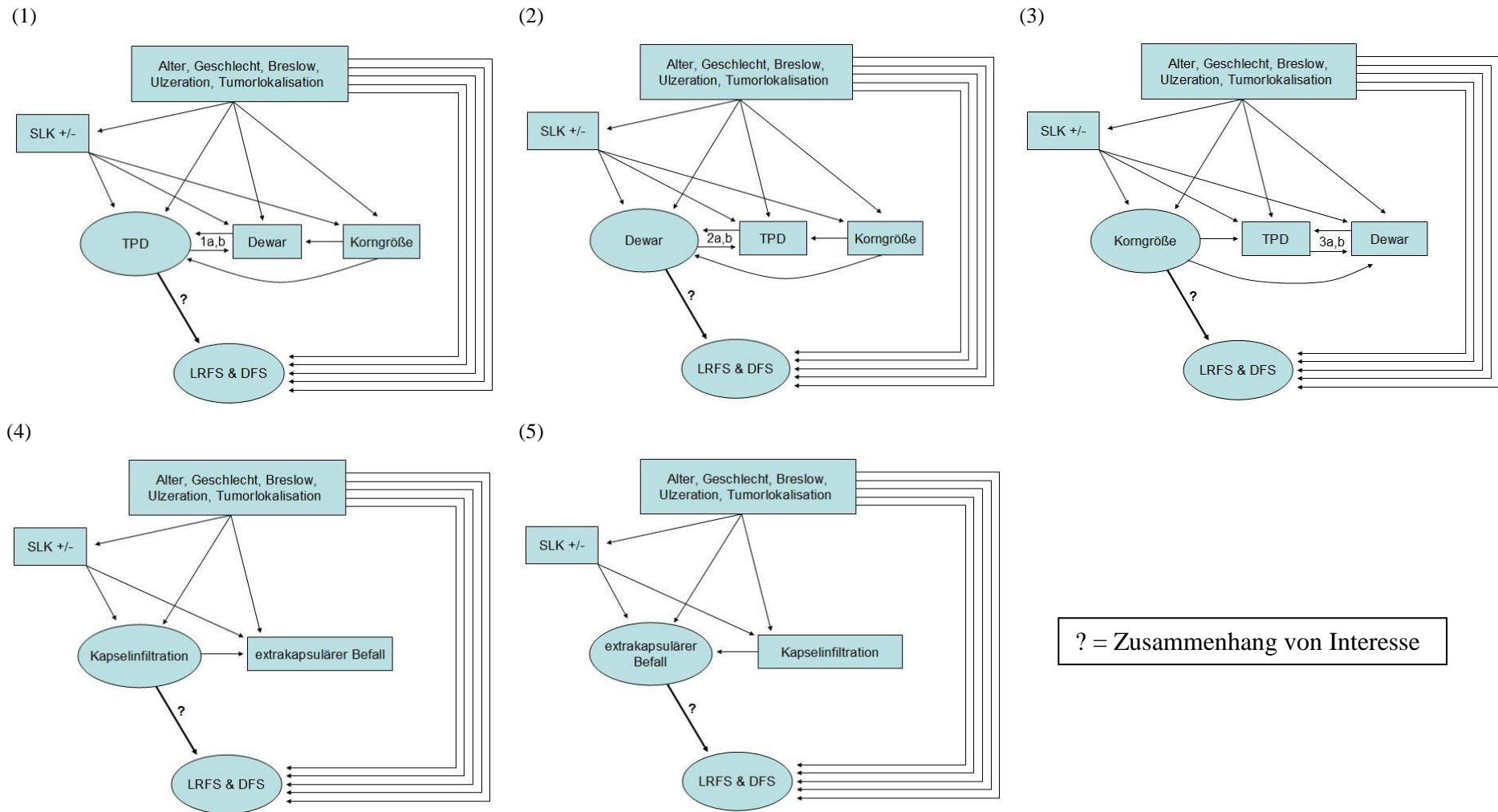


Abb. 10: Kausale Graphen für die Assoziation zw. (1) TPD, (2) Dewar-Klass., (3) Korngröße, (4) Kapselinfiltration, (5) EKA und LRFS bzw. DFS.

4. Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

4.1.1 Klinische und Primärtumor-Merkmale

346 Patienten mit primärem Melanom an Rumpf und Extremitäten nach SLKB wurden ausgewertet. Eine detaillierte Zusammenfassung der Basischarakteristika bietet **Tabelle 6**. Die Studiengruppe enthielt 170 Männer (49,1%) und 176 Frauen (50,9%), das mediane Alter bei Diagnosestellung betrug 64,2 Jahre (Mittelwert 61,3 Jahre; Range 13,7-91,3 Jahre) und die mediane Nachbeobachtungszeit 34,7 Monate (Range 1,0-97,9 Monate). Ein tumorbefallener SLK fand sich bei 86 von 346 Patienten (24,9%).

Patienten mit melanombefallenen SLK zeigten häufiger folgende Eigenschaften: sie waren männlichen Geschlechts (53,5 vs. 47,7%), der Primärtumor war deutlich dicker (medianer Breslow 3,3 mm vs. 1,5 mm) und am Stamm lokalisiert (54,7% vs. 47,7%), hatte höhere Clark-Level, war wesentlich häufiger ulzeriert (51,2% vs. 30,0%) sowie regressiv verändert (20,9% vs. 16,2%). Der häufigste histologische Subtyp der SLK-positiven Patienten war das noduläre Melanom (51,2% der Fälle), bei den SLK-negativen Patienten das superfiziell spreitende Melanom (48,5% der Fälle). In beiden Gruppen dominierten Primärbefunde mit vertikalem Wachstumsmuster (94,2% bei den SLK-positiven vs. 69,6% bei den SLK-negativen Patienten). Die Patienten mit positivem SLK waren im Median geringgradig älter als in der Vergleichsgruppe (65,8 vs. 63,9 Jahre). Für die überwiegende Zahl der Patienten war der Befund das Erstmalignom (Gesamt 90,2%). Nur selten fand sich eine positive Familienanamnese (5,2% der Patienten).

Zuletzt zeigten Patienten mit positivem SLK deutlich häufiger Lokalrezidive (27,9% vs. 10,4% bei SLK-negativen Patienten) sowie Fernmetastasen (27,9% vs. 8,5%), und starben fast 3-mal so häufig an den Folgen des Melanoms. Das mediane Follow-Up in beiden Gruppen war vergleichbar (34,3 Monate bei den SLK-Positiven vs. 35,3 bei den SLK-Negativen).

Tabelle 6: Klinische und Primärtumor-Merkmale von 346 Patienten nach SLKB.

Parameter	Anzahl der Patienten (%)		
	Total	Pos. SLK	Neg. SLK
Anzahl an Patienten	346 (100)	86 (24,9)	260 (75,1)
Status			
Am Leben	299 (86,4)	67 (77,9)	232 (89,2)
Verstorben gesamt	47 (13,6)	19 (22,1)	28 (10,8)
V. am Melanom	35 (10,1)	17 (19,8)	18 (6,9)
V. andere Ursachen	12 (3,5)	2 (2,3)	10 (3,9)
Lokalrezidiv	51 (14,7)	24 (27,9)	27 (10,4)
Fernmetastase	46 (13,3)	24 (27,9)	22 (8,5)
Rekurrenz gesamt	67 (19,4)	28 (32,6)	39 (15,0)
Geschlecht			
Männlich	170 (49,1)	46 (53,5)	124 (47,7)
Weiblich	176 (50,9)	40 (46,5)	136 (52,3)
Alter bei Diagnose (Jahre)			
Mittelwert	61,3	63,2	60,7
Median	64,2	65,8	63,9
Range	13,7-91,3	21,7-89,7	13,7-91,3
Follow-Up (Monate)			
Median	34,7	34,3	35,3
P10	7,4	8,7	7,2
P90	75,9	69,1	77,5
Lokalisation			
Rumpf	171 (49,4)	47 (54,7)	124 (47,7)
Extremitäten	175 (50,6)	39 (45,3)	136 (52,3)
Körperseite			
Links	179 (51,7)	48 (55,8)	131 (50,4)
Rechts	139 (40,2)	31 (36,1)	108 (41,5)
Mittig	28 (8,1)	7 (8,1)	21 (8,1)
Erstmalignom			
Ja	312 (90,2)	72 (83,7)	240 (92,3)
Nein	14 (4,1)	14 (16,3)	0 (0)
Unbekannt	20 (5,7)	0 (0)	20 (7,7)
Familiäres Melanom			
Ja	18 (5,2)	2 (2,3)	16 (6,2)
Nein	326 (94,2)	84 (97,7)	242 (93,1)
Unbekannt	2 (0,6)	0 (0)	2 (0,7)
Breslow-Index (mm) / TNM			
Mittelwert	3,0	4,4	2,5
Median	1,8	3,3	1,5
Range	0-28,0	0,5-28,0	0-23,0
T1 (0,01 - 1,0mm)	75 (21,7)	6 (7,0)	69 (26,5)
T2 (1,01 - 2,0mm)	117 (33,8)	17 (19,8)	100 (38,5)
T3 (2,01 - 4,0mm)	85 (24,6)	34 (39,5)	51 (19,6)
T4 (> 4,0mm)	69 (19,9)	29 (33,7)	40 (15,4)

Tabelle 6 (Fortsetzung): Klinische und Primärtumor-Merkmale.

Parameter	Anzahl der Patienten (%)		
	Total	Pos. SLK	Neg. SLK
Clark-Level			
I	5 (1,5)	0 (0)	5 (1,9)
II	51 (14,7)	13 (15,1)	38 (14,6)
III	132 (38,2)	32 (37,2)	100 (38,5)
IV	109 (31,5)	26 (30,2)	83 (31,9)
V	37 (10,7)	12 (14,0)	25 (9,6)
Unbekannt	12 (3,4)	3 (3,5)	9 (3,5)
Ulzeration			
Ja	122 (35,3)	44 (51,2)	78 (30,0)
Nein	224 (64,7)	42 (48,8)	182 (70,0)
Regression			
Ja	60 (17,3)	18 (20,9)	42 (16,2)
Nein	270 (78,0)	68 (79,1)	202 (77,7)
Unbekannt	16 (4,7)	0 (0)	16 (6,1)
Histologischer Subtyp			
SSM	156 (45,1)	30 (34,9)	126 (48,5)
NM	130 (37,6)	44 (51,2)	86 (33,1)
ALM	25 (7,2)	7 (8,1)	18 (6,9)
Andere/Unklassifiziert	35 (10,1)	5 (5,8)	30 (11,5)
Nävusassoziation			
Ja	85 (24,6)	13 (15,1)	72 (27,7)
Nein	227 (65,6)	61 (70,9)	166 (63,9)
Unbekannt	34 (9,8)	12 (14,0)	22 (8,5)
Wachstumsphase			
Horizontal	45 (13,0)	2 (2,3)	43 (16,5)
Vertikal	262 (75,7)	81 (94,2)	181 (69,6)
Unbekannt	39 (11,3)	3 (3,5)	36 (13,6)

Abkürzungen: SLKB: Sentinel-Lymphknoten-Biopsie; SSM: superfiziell spreitendes Melanom; NM: noduläres Melanom; ALM: akrolentiginöses Melanom.

4.1.2 Sentinel-Lymphknoten-Merkmale

Die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie identifizierte im Mittel 1,6 (Range 1-5), in den überwiegenden Fällen einen SLK. In 90,7% war ein SLK tumorbefallen, im Rest der Fälle 2 Lymphknoten. Die mediane TPD betrug 1450 µm (Range 63-6000 µm). Die meisten Patienten (61,6%) fanden sich in S-Klasse III. Die Dewar-Klasse II (combined) war am häufigsten (41,9%), eine subkapsuläre Lage (I) am seltensten (3,5%). Die Korngröße betrug im Median 563 µm mit einer starken Streuung (20-16000 µm). 16 von 86 Patienten (18,6%) zeigten isolierte Tumorzellen. Eine Kapselinfiltration fand sich 38,4% der Fälle, eine extrakapsuläre Tumorausbreitung in 17,4%. Detaillierte Angaben zeigt **Tabelle 7**.

Tabelle 7: SLK-Merkmale von 86 Patienten mit positivem SLK.

Parameter	Anzahl der Patienten (%)	
	Pos. SLK	Neg. SLK
Entnommene SLK		
N	136	390
Mittelwert	1,6	1,5
Median	1	1
1	50 (58,1)	191 (73,5)
2	25 (29,1)	69 (26,5)
≥ 3	11 (12,8)	27 (10,4)
Positive SLK		
N	94	-
Mittelwert	1,09	-
Median	1	-
1	78 (90,7)	-
2	8 (9,3)	-
TPD (µm)		
Mittelwert	1659,6	-
Median	1449,5	-
Range	63-6000	-
S-Klassifikation		
I (≤ 300µm)	6 (7,0)	-
II (301 - 1000µm)	27 (31,4)	-
I-II	33 (38,4)	-
III (> 1000µm)	53 (61,6)	-
Dewar-Klassifikation		
I subcapsular	3 (3,5)	-
II combined	36 (41,9)	-
III parenchymal	16 (18,6)	-
I-III	55 (64,0)	-
IV multifocal	16 (18,6)	-
V extensive	15 (17,4)	-
IV-V	31 (36,0)	-
Korngröße (µm)		
Mittelwert	1929,7	-
Median	562,5	-
Range	20-16000	-
Rotterdam-Klassifikation		
I (< 100µm)	16 (18,6)	-
II (100 - 1000µm)	37 (43,0)	-
I-II	53 (61,6)	-
III (> 1000µm)	33 (38,4)	-
Kapselinfiltration		
Ja	33 (38,4)	-
Extrakapsulärer Befall		
Ja	15 (17,4)	-
ITC (≤100 µm)		
N	16 (18,6)	-
Range (µm)	20-94	-

Abkürzungen: ITC: isolated tumour cells.

4.1.3 Merkmale der Kovariaten

Eine detaillierte Statistik zur Distribution der Kovariaten auf die fünf beschriebenen histopathologischen Parameter bieten die **Tabellen 8 bis 11**. Im Anschluss sind einige Besonderheiten im Detail angeführt:

1) S-Klassifikation:

In S I beobachteten wir ein jüngeres Patientengut (im Mittel 59,8 Jahre), seltenere Ulzerationen (17% der Fälle) und eine doppelt so häufige Lokalisation am Rumpf. Die Gruppen II und III enthielten häufiger männliche Patienten mit Extremitäten-Lokalisation. S III hatte den höchsten medianen Breslow (3,85 mm) und war am häufigsten ulzeriert (55% der Fälle) (**Tabelle 8**).

2) Dewar-Klassifikation:

Dewar I bildete die jüngste Gruppe (im Mittel 50,3 Jahre). Das Geschlecht war vorwiegend gleichverteilt, bis auf ein Plus an Männern in Dewar IV (11 vs. 5). Ein hoher Breslow und eine Lokalisation am Rumpf fanden sich wie erwartet in den Klassen mit ausgedehntem Tumorbefall (Dewar IV, V). Ausreißer war in beiden Fällen Dewar I (hoher Breslow und ausnahmslos am Rumpf lokalisiert), jedoch fanden sich nur 3 Patienten in dieser Gruppe. Eine Ulzeration fand sich bei 92% der Patienten in Dewar V, die restlichen Klassen waren unstat. In direktem Vergleich zeigte Dewar IV-V gegenüber Dewar I-III mehr männliche Individuen, einen höheren Breslow sowie eine 2:1 Lokalisation Rumpf vs. Extremitäten (**Tabelle 10**).

3) Rotterdam-Klassifikation:

Es zeigte sich in Klasse III ein vorwiegend männliches Geschlecht (20 von 33 Fällen), der höchste mediane Breslow (5,0 mm), die höchste Zahl ulzerierter Primärtumoren (64% der Fälle) und eine 2x so häufige Lokalisation am Rumpf als am Stamm. Die Fälle mit geringster Ulzeration sowie geringstem Breslow fanden sich in Klasse I. Hier zeigte sich auch das höchste mittlere Alter aller drei Klassen (**Tabelle 11**).

4) Kapselinfiltration:

Die Fälle mit Kapselinfiltration zeigten häufiger einen ulzerierten Primarius (64% vs. 43% der Fälle) und waren am Rumpf lokalisiert (20 von 33 Fällen). Die Patienten ohne Kapselbefall waren häufiger männlichen Geschlechts (30 von 53 Fällen). Alter und Breslow waren gleichverteilt (**Tabelle 9**).

5) Extrakapsuläre Tumorausbreitung:

Die Patienten mit EKA waren deutlich jünger (im Mittel 58,4 Jahre vs. 64,2 Jahre), wiesen einen deutlich höheren medianen Breslow auf (5,6 mm vs. 3,0 mm) und zeigten häufiger Ulzerationen (60% vs. 49%). Fälle ohne EKA waren häufiger männlich (38 von 71 Fällen) und wiesen eine Primärtumorlokalisation am Rumpf (40 von 71 Patienten) auf (**Tabelle 9**).

Tabelle 8: Merkmale der Kovariaten in Bezug auf die S-Klassifikation.

Kovariaten	S I	S II	S I-II	S III
Alter (Jahre)				
\bar{x} (SD)	59,8 (11,5)	65,4 (13,0)	64,4 (12,7)	62,4 (14,0)
Geschlecht				
Männlich	3	16	19	27
Weiblich	3	11	14	26
Breslow (mm)				
\tilde{x}	3,05	2,8	2,8	3,85
P25/P75	1,6/3,75	2,0/3,6	2,0/3,8	2,1/6,0
Ulzeration				
Ja	1 (17%)	14 (52%)	15 (46%)	29 (55%)
Tumorlokalisation				
Rumpf	4	12	16	25
Extremitäten	2	15	17	28

Abkürzungen: \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; \tilde{x} : Median; P25/75: 25/75%-Quantil.

Tabelle 9: Merkmale der Kovariaten in Bezug auf Kapselinfiltration sowie EKA.

Kovariaten	Kapselinfiltration		Extrakapsuläre Ausbreitung	
	Ja	Nein	Ja	nein
Alter (Jahre)				
\bar{x} (SD)	63,3 (11,4)	63,1 (14,8)	58,4 (15,9)	64,2 (12,9)
Geschlecht				
Männlich	16	30	8	38
Weiblich	17	23	7	33
Breslow (mm)				
\tilde{x}	3,2	3,4	5,6	3,0
P25/P75	2,1/5,0	2,0/6,0	4,2/7,05	1,88/4,75
Ulzeration				
Ja	21 (64%)	23 (43%)	9 (60%)	35 (49%)
Tumorlokalisation				
Rumpf	20	27	7	40
Extremitäten	13	26	8	31

Ergebnisse

Tabelle 10: Merkmale der Kovariaten in Bezug auf die Dewar-Klassifikation.

Kovariaten	Dewar I	Dewar II	Dewar III	Dewar I-III	Dewar IV	Dewar V	Dewar IV-V
Alter (Jahre)							
\bar{x} (SD)	50,3 (7,5)	63,1 (14,6)	64,7 (12,9)	62,9 (14,0)	63,2 (14,1)	64,2 (11,6)	63,7 (12,7)
Geschlecht							
Männlich	1	18	9	28	11	7	18
Weiblich	2	18	7	27	5	8	13
Breslow (mm)							
\tilde{x}	3,6	2,9	2,28	2,8	3,3	6,0	5,0
P25/P75	2,45/3,8	1,89/5,53	1,75/3,8	1,83/3,93	2,08/6,33	4,9/7,55	2,65/6,9
Ulzeration							
Ja	1 (33%)	21 (58%)	5 (31%)	27 (49%)	5 (36%)	12 (92%)	17 (55%)
Tumorlokalisation							
Rumpf	3	18	5	26	11	10	21
Extremitäten	0	18	11	29	5	5	10

Abkürzungen: \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; \tilde{x} : Median; P25/75: 25/75%-Quantil.

Tabelle 11: Merkmale der Kovariaten in Bezug auf die Rotterdam-Klassifikation.

Kovariaten	Rotterdam I	Rotterdam II	Rotterdam I-II	Rotterdam III
Alter (Jahre)				
\bar{x} (SD)	69,1 (11,5)	61,1 (13,7)	63,5 (13,5)	62,6 (13,7)
Geschlecht				
Männlich	8	18	26	20
Weiblich	8	19	27	13
Breslow (mm)				
\tilde{x} (P25; P75)	2,28 (1,9; 3,85)	2,8 (1,8; 3,85)	2,8 (1,8; 3,85)	5,0 (2,8; 6,5)
Ulzeration				
Ja	5 (31%)	18 (49%)	23 (43%)	21 (64%)
Tumorlokalisation				
Rumpf	8	19	27	21
Extremitäten	8	18	26	12

4.2 Induktive Statistik

4.2.1 Univariable und multivariable Effektschätzung

Mittels univariabler und multivariabler Cox-Regression bemaßen wir den Einfluss folgender Merkmale auf das Auftreten eines lokoregionären Rezidivs sowie einer Melanomrezidiv insgesamt:

- der SLK-Positivität,
- 5 histopathologischer Parameter bzw. ihrer Untergruppen (siehe 3.7),
- des Inkrements von TPD bzw. Korngröße um 500 µm,
- der Zunahme der Rate positiver SLK-Schnitte um 10%,
- der Zunahme der Tumorgröße (angenähert 3-dimensional) um 400.000 cm² (dies entspricht einem Tumorcluster von 1000 x 500µm Größe in 80% der Schnitte).

Als statistische Referenz dienten die SLK-negativen Patienten, im Falle des Intra- und Extrakapsulären Befalls einschließlich jeweils den Patienten ohne genanntes Merkmal. **Tabelle 12** bieten eine detaillierte Übersicht aller Effektmaße, der folgende Abschnitt zeigt die wesentlichen Ergebnisse auf. Dabei zeigte sich, dass die Adjustierung für die 5 identifizierten Confounder (siehe 3.8) im multivariablen Cox Modell in jedem einzelnen Fall die Effektmaße deutlich reduzierte und damit eine Überschätzung des Risikos für ein Rezidiv verhinderte.

- **Sentinel-Status:**

Die vorliegende Studie zeigt, dass der Befall des SLK durch Melanomzellen ein starker, unabhängiger Prädiktor sowohl für Lokalrezidive (HR 2,44), als auch für Rezidive insgesamt (HR 1,98) ist.

- **TPD / S-Klassifikation:**

Wir identifizierten S III als unabhängigen, negativen Prädiktor auf beide Zielgrößen (HR 3,59 für Lokalrezidive; HR 2,88 für Rezidive insgesamt). Umgekehrt zeigte sich für S I-II ein protektiver Effekt (HR 0,79 für Lokalrezidive, 0,85 für Rezidive insgesamt), jedoch ist infolge der niedrigen Präzision des Ergebnisses (sehr breites 95% CI; CLR von 10,9 resp. 6,5) dieses nicht interpretierbar. Ein Inkrement der TPD um 500 µm steigerte das Risiko für beide Zielgrößen moderat (HR 1,25 für Lokalrezidive; 1,24 für Rezidive insgesamt). Auffällig ist hier das ausgesprochen präzise Ergebnis.

- **Dewar-Klassifikation:**

Sowohl die Dewar-Klassen I-III als auch IV-V waren unabhängige, negative Prognosemarker für beide Zielgrößen (HR 3,87 für Lokalrezidive; HR 3,17 für Rezidive

insgesamt), im Falle Dewar I-III aber mit einer niedrigen statistischen Präzision (CLR 4,2 resp. 3,5; die Grenzen des Konfidenzintervalls liegen beidseits der „1“).

- **Rotterdam-Klassifikation/Korngröße:**

Die vorliegende Studie zeigt Rotterdam III als unabhängigen, stark negativen Prädiktor für beide Zielgrößen (HR 3,89 für Lokalrezidive; HR 3,06 für Rezidive insgesamt). Damit ist Rotterdam Klasse III der stärkste Prognoseparameter in dieser Studie. Analog zu Dewar I-II hatten Patienten in Rotterdam I-II ein moderates Risiko für Lokalrezidive (HR 1,54) sowie für Rezidive insgesamt (HR 1,30), jedoch war die statistische Präzision niedrig (breites 95% CI mit Limits beidseits der „1“; CLR 4,6 resp. 3,5). Ein Inkrement der Korngröße um 500 µm steigerte das Risiko für beide Zielgrößen geringgradig (HR 1,06 für Lokalrezidive; 1,07 für Rezidive insgesamt). Analog zum Inkrement der TPD ist auch dieses Ergebnis hoch präzise.

- **Kapselinfiltration:**

Die Cox-Analyse identifizierte den Kapselbefall durch Melanomzellen als starken, unabhängigen Prädiktor für das Auftreten eines Lokalrezidivs (HR 2,15) sowie einer Melanomrezidiv insgesamt (HR 1,69), jedoch in Bezug auf Letzteres mit eingeschränkter statistischer Präzision (Konfidenzintervall beidseits der „1“; CLR 3,9).

- **Extrakapsuläre Tumorausbreitung:**

Wir identifizierten die EKA als starken, unabhängigen Prädiktor für beide Zielgrößen (HR 3,24 für Lokalrezidive; 2,34 für Rezidive insgesamt), jedoch zeigte sich ein vergleichsweise hohes CLR für beide Zielgrößen (5,7 resp. 5,5).

- **PosNCutRate und 3D-Modell der Tumorgröße:**

Die Zunahme der Rate der tumorpositiven histopathologischen Schnitte an der Gesamtzahl der Schnitte um 10% geht mit einer moderaten Risikoerhöhung für beide Zielgrößen einher (HR 1,26 für Lokalrezidive; 1,22 für Rezidive insgesamt). Diese Ergebnisse weisen eine hohe statistische Präzision auf. Im Gegensatz dazu liefert das Modell zur Abbildung der dreidimensionalen Tumorgröße mit einer Risikoerhöhung von 1% für ein Inkrement von 400.000 cm², repräsentierend für ein Cluster von 1000x500 µm in 80% der Schnitte, für beide Zielgrößen kein klinisch verwertbares Resultat.

Im Abschluss ist zu bemerken, dass alle Klassen, bei denen ein negativer prädiktiver Wert zu erwarten war (positiver SLK-Status, S III, Dewar IV-V, Rotterdam III, Kapselinfiltration sowie EKA), numerisch eine deutlich höhere Rate an Ereignissen aufwiesen (um den Faktor 2 bis 4,4). Dies bestätigte die Cox-Regression. Die im Umkehrschluss erwarteten protektiven Punktschätzer für S I, Dewar I und Rotterdam I ließen sich jedoch anhand der Gruppen S I-II, Dewar I-III und Rotterdam I-II nicht nachvollziehen.

Ergebnisse

Tabelle 12: Prognostischer Einfluss der histopathologischen Parameter von 86 SLK-positiven Patienten auf LRFS und DFS.

Parameters	N _{Pat.}	LRFS			DFS		
		Events	Rohe	Adjustierte	Events	Rohe	Adjustierte
			Effektmaße	Effektmaße ¹		Effektmaße	Effektmaße ¹
			HR (95% CI)	HR (95% CI)		HR (95% CI)	HR (95% CI)
SLK-Positivität ²	86	24	3.00 (1.72-5.23)	2.44 (1.39-4.29)	28	2.50 (1.53-4.08)	1.98 (1.21-3.25)
S-Klassifikation/TPD							
I-II ²	34	3	0.80 (0.24-2.65)	0.79 (0.24-2.62)	5	0.90 (0.36-2.29)	0.85 (0.33-2.16)
III ²	52	21	4.96 (2.79-8.84)	3.59 (1.97-6.52)	23	4.13 (2.44-6.97)	2.88 (1.68-4.94)
500µM Inkrement			1.31 (1.20-1.42)	1.25 (1.14-1.37)		1.31 (1.21-1.42)	1.24 (1.14-1.35)
Dewar-Klassifikation							
I-III ²	55	11	2.00 (0.99-4.06)	1.76 (0.86-3.57)	13	1.65 (0.88-3.09)	1.42 (0.76-2.68)
IV-V ²	31	13	5.20 (2.67-10.12)	3.87 (1.89-7.91)	15	4.60 (2.52-8.38)	3.17 (1.68-6.00)
Rotterdam-Klassifikation/ Tumorgröße							
I-II ²	52	9	1.69 (0.79-3.62)	1.54 (0.72-3.30)	11	1.47 (0.75-2.87)	1.30 (0.66-2.56)
III ²	34	15	5.60 (2.96-10.58)	3.89 (2.01-7.55)	17	4.64 (2.61-8.24)	3.06 (1.69-5.52)
500µM Inkrement			1.16 (1.08-1.26)	1.13 (1.04-1.23)		1.19 (1.11-1.27)	1.15 (1.07-1.23)
Intrakapsulärer Befall							
Ja vs. Nein	33	9	2.21 (1.07-4.55)	2.15 (1.02-4.52)	10	1.87 (0.95-3.67)	1.69 (0.85-3.35)
Extrakapsulärer Befall							
Ja vs. Nein	15	7	4.52 (2.03-10.08)	3.24 (1.35-7.73)	7	3.18 (1.45-6.97)	2.34 (1.00-5.45)
3D-model							
PosNCutRate ³			1.26 (1.07-1.48)	1.26 (1.07-1.49)		1.23 (1.07-1.42)	1.22 (1.05-1.41)
AreaEllipse*PosNCutRate ⁴			1.01 (1.00-1.01)	1.01 (1.00-1.01)		1.01 (1.00-1.01)	1.01 (1.00-1.01)

Abkürzungen: N_{Pat.}: Anzahl an Patienten; TPD: tumour penetration depth; LRFS: local recurrence-free survival; DFS: disease-free survival; HR: hazard ratio; CI: Konfidenzintervall; ¹ adjustiert für: Alter, Sex, Breslow, Ulzeration, Tumorlokalisation; ² Referenz=SLK-negative Patienten; ³ PosNCutRate=Zahl der tumorbefallenen histologischen Schnitte geteilt durch die Gesamtzahl an Schnitten (10% Inkrement); ⁴ ($\pi/4$ multipliziert mit (Diameter des größten Tumorclusters) multipliziert mit (PosNCutRate)) (400.000µm² Inkrement, repräsentiert ein Tumorcluster von 1000x500µm in 80% der Schnitte).

4.2.2 Überlebenszeitanalyse

Die Kaplan-Meier-Analyse (Abb. 11, 12) zeigte deutliche Unterschiede in der Überlebenswahrscheinlichkeit der getesteten Gruppen. So sank diese für alle 6 Merkmale in den ersten 18 Monaten nach Operation am deutlichsten, in der weiteren Folge nur noch leicht. Nach 18 Monaten bestand für Patienten mit positivem SLK bzw. mit Kapselinfiltration eine Überlebenswahrscheinlichkeit von ca. 75%. Für S III, Dewar IV-V und Rotterdam III war diese 60-65%. Am schlechtesten schnitten Patienten mit extrakapsulärem Melanombefall ab (45% Überlebenswahrscheinlichkeit nach 12 Monaten). Das nachfolgende Zeitintervall für EKA ist zensiert. Patienten in S I-II, Rotterdam I-II und Dewar I-III lebten mit Überlebenswahrscheinlichkeiten von 90, 85 bzw. 80% nach 18 Monaten demgegenüber deutlich länger. Wesentliche Unterschiede zwischen LRFS und DFS zeigten sich nicht.

4.2.3 C-Statistik

Die C-Statistik ergab C-Indizes, als Maß der Diskriminations-/Prädiktionsfähigkeit, von ca. 70% für alle getesteten Parameter mit minimalen Differenzen zwischen den Indizes sowie zum Basismodell (beinhaltet ausschließlich die Confounder) und zum Gesamtmodell (enthält alle 6 histopathologischen Merkmale plus alle Confounder). **Tabelle 13** listet die entsprechenden Resultate auf.

Tabelle 13: C-Indizes der SLK-Prognoseparameter.

	LRFS (adjustierte Effektmaße)	DFS (adjustierte Effektmaße)
	C-Index (95% CI)	C-Index (95% CI)
S-Klassifikation	0.68 (0.40-0.92)	0.74 (0.51-0.93)
TPD (500µm Inkrement)	0.70 (0.41-0.93)	0.73 (0.49-0.93)
Dewar-Klassifikation	0.69 (0.41-0.92)	0.74 (0.50-0.93)
Rotterdam-Klassifikation	0.69 (0.40-0.92)	0.73 (0.49-0.93)
Tumorgroße (500µm Inkrem.)	0.74 (0.46-0.96)	0.76 (0.52-0.94)
Kapselinfiltration	0.75 (0.47-0.96)	0.77 (0.53-0.95)
Extrakapsulärer Befall	0.72 (0.43-0.94)	0.76 (0.52-0.94)
Basismodell ¹	0.67 (0.39-0.91)	0.78 (0.54-0.95)
Gesamtmodell ²	0.67 (0.39-0.91)	0.71 (0.47-0.91)

¹fasst alle Confounder (Alter, Geschlecht, Breslow, Ulzeration, Tumorlokalisation) zusammen;

²fasst alle Confounder sowie alle histologischen Parameters zusammen

Ergebnisse

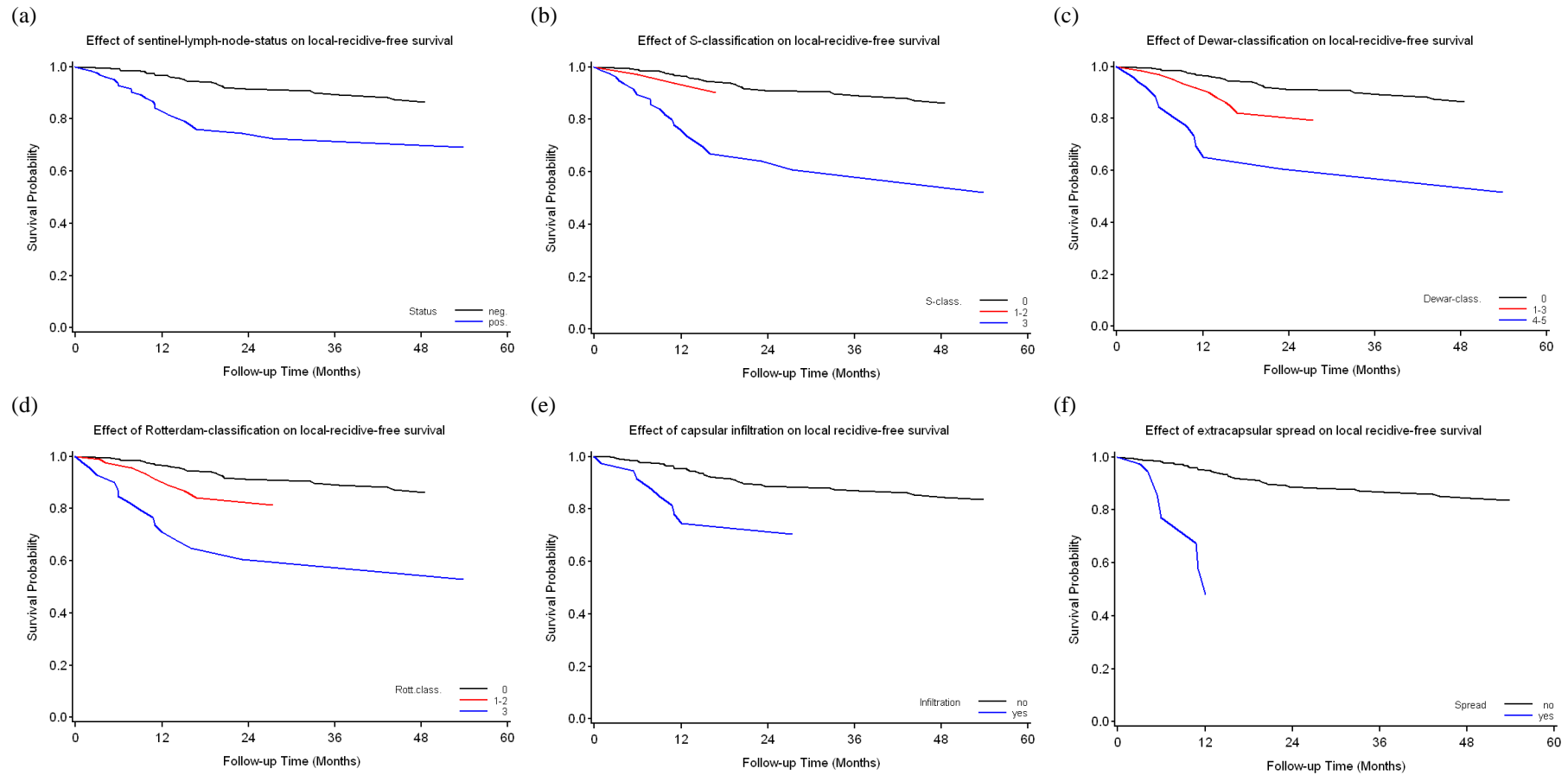


Abb. 11: Überlebenszeitanalyse mittels Kaplan-Meier-Methode für (a) den SLK-Status, (b) die S-Klassifikation, (c) die Dewar Klassifikation, (d) die Rotterdam Klassifikation, (e) die Kapselinfiltration und (f) die extrakapsuläre Ausbreitung in Bezug auf LRFS.

Ergebnisse

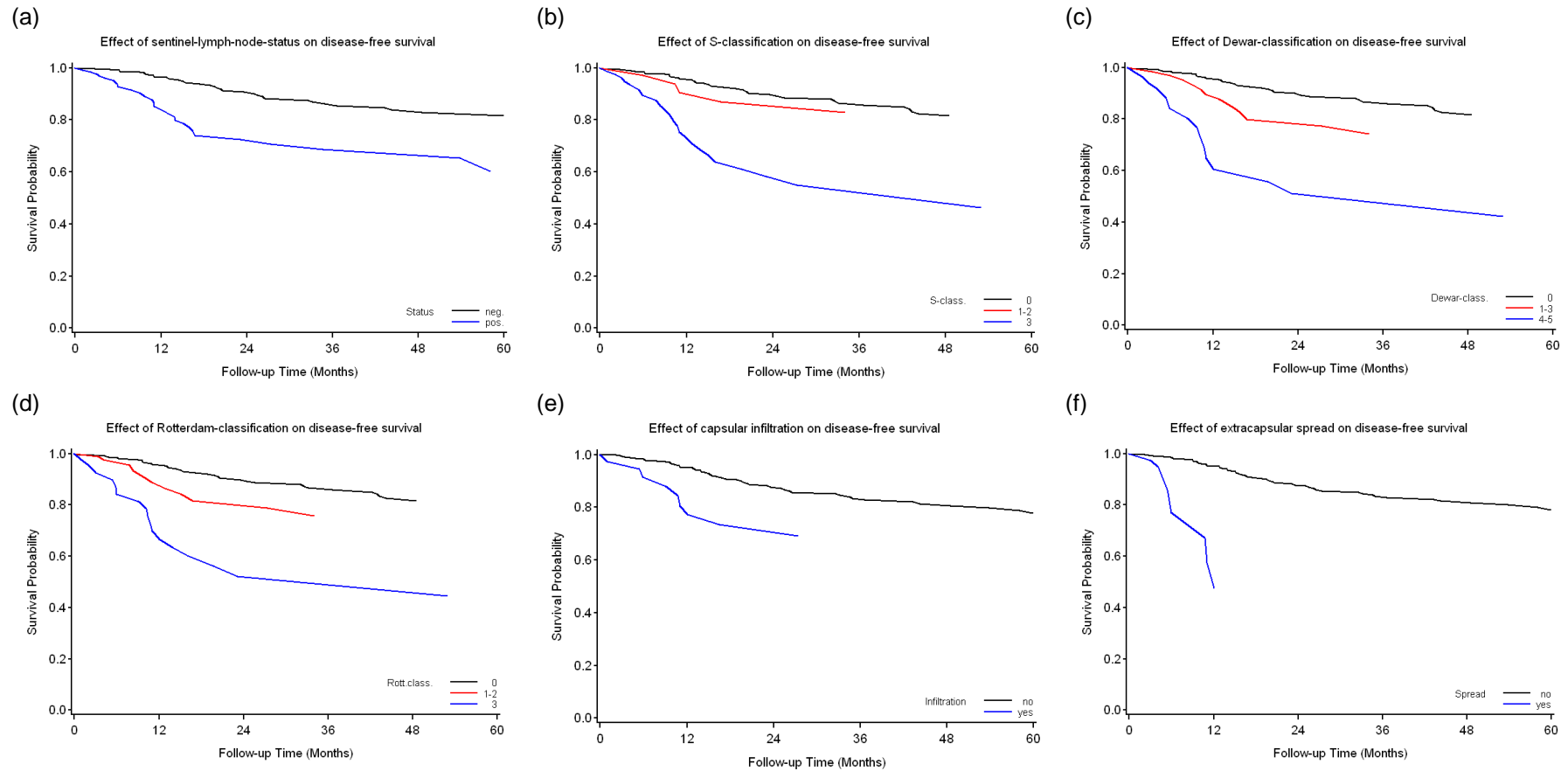


Abb. 12: Überlebenszeitanalyse mittels Kaplan-Meier-Methode für (a) den SLK-Status, (b) die S-Klassifikation, (c) die Dewar Klassifikation, (d) die Rotterdam Klassifikation, (e) die Kapselinfiltration und (f) die extrakapsuläre Ausbreitung in Bezug auf DFS.

5. Diskussion

Die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie ist eine international (Bsp.: USA, Australien, Deutschland) etablierte Methode zur frühzeitigen Entdeckung okkult regionaler LK-Metastasen bei malignem Melanom. Trotz der erwiesenen prognostischen Rolle als Stagingprozedur wird der therapeutische Nutzen weiterhin kontrovers diskutiert [47-48]. So hat die SLKB zwar einen positiven Einfluss auf die lokale Tumorkontrolle, jedoch nicht auf das Gesamtüberleben der Patienten. Weiterhin ist die Prozedur kostenintensiv (10.000-15.000 US-\$) [110] und schon der Nachweis einer einzelnen Melanomzelle im SLK führt zur Empfehlung einer morbiditätsbehafteten kompletten Lymphadenektomie, welche schlussendlich nur bei 10-33% [11-12,111-114] der Patienten einen Tumornachweis und damit eine Handlungskonsequenz ergibt. Daneben ist im Falle eines Melanomzell-Nachweises im SLK bisher nicht geklärt, welche histologischen Parameter eine prognostische Relevanz haben und sich für die Routinebefundung eignen.

Wir untersuchten den SLK-Status und fünf histopathologische Kriterien auf ihre prädiktive Aussagekraft hinsichtlich LRFS und DFS anhand einer Gruppe von 346 Patienten nach SLKB mit bekanntem klinischem Verlauf. Obwohl alle Parameter im Stande waren, Patienten mit schlechter Prognose zu identifizieren (positiver SLK-Status, S III, Dewar I-III und IV-V, Rotterdam I-II und III, intra- sowie extrakapsulärer Tumorbefall), blieb die Identifizierung von Patienten mit günstiger Prognose schwächlich, denen zusätzliche potentiell risikobehaftete Prozeduren erspart werden könnten. Die Inkremente von TPD und Korngröße helfen, diese Lücke zu schließen. Das postulierte 3D-Modells der Tumorarchitektur sowie die Gewichtung der Parameter untereinander mittels C-Statistik erhöhte die prognostische Sicherheit nicht.

5.1 Klinische und Primärtumor-Merkmale

In der vorliegenden Studie war das mediane Alter bei Diagnosestellung mit 64,2 Jahren typisch (50. bis 60. LJ) [3], ebenso die Rate der Patienten mit SLK-Mikrometastasierung mit 24,9% (Referenz 15-33%) [42]. Das mediane Follow-Up betrug 34,7 Monate und lag damit im Vergleich zu anderen Studien im unteren Drittel (siehe **Tabelle 1** unter **1.3**). Eine Auswertung mit längerer Latenz könnte helfen, jedoch dauerte es im Median 13,0 Monate (Mittelwert 20,0) bis zum ersten Rezidiv, d.h. die gegebene Nachbeobachtungszeit sollte einen Großteil der Rezidive erfasst haben. Auch waren die Patienten mit niedrigem Follow Up gleichmäßig auf die im Anschluss folgenden Gruppen verteilt.

Wie erwartet [85,87,115-119] wiesen die Primärtumoren der Patienten mit positivem SLK, verglichen mit den Patienten mit negativem SLK, deutlich häufiger folgende Merkmale auf: sie waren männlichen Geschlechts (53,5 vs. 47,7%), der Primärtumor war deutlich dicker

(medianer Breslow-Index 3,3mm vs. 1,5mm) und am Stamm lokalisiert (54,7% vs. 47,7%; Erklärung: Melanome am Stamm werden häufiger übersehen und sind damit bei Diagnosestellung häufig in fortgeschrittenen Stadien), sie hatten höhere Clark-Level und waren wesentlich häufiger ulzeriert (51,2% vs. 30,0%) und regressiv (20,9% vs. 16,2%) - als Zeichen einer bereits stattgehabten Immunreaktion und damit einer längeren Erkrankungszeit. Der häufigste histologische Subtyp der Patienten mit SLK-Mikrometastasen war das noduläre Melanom (51,2% der Fälle), der von SLK-negativen Patienten das superfiziell spreitende Melanom (48,5% der Fälle). Sowohl SLK-positive als auch -negative hatten überwiegend Primärtumoren mit vertikalem Wachstumsmuster (94,2% vs. 69,6%), die Patienten mit Mikrometastasierung fast ausnahmslos. Auch diese zwei Beobachtungen sind erwartet, da ein noduläres Melanom (das heißt mit frühem vertikalem Wachstum) eher als ein superfizielles, zunächst horizontal wachsendes Melanom Zugang zu den dermal gelegenen Lymph- und Blutgefäßen findet und damit allgemein früher metastasieren kann.

Entgegen dem wissenschaftlichen Konsens, dass ein junges Patientenalter (<60 Jahre) als Risikofaktor für den SLK-Tumorbefall gilt [87,91,116], waren in unserer Studie die Patienten mit positivem SLK im Median geringfügig älter als in der Vergleichsgruppe (65,8 vs. 63,9 Jahre). Für die überwiegende Zahl der Patienten war das Melanom das Erstmaligom (Gesamt 90,2%). Nur selten fand sich unter den Studienpatienten eine positive Familienanamnese in Hinsicht auf das Melanom (Gesamt 5,2%), insgesamt liegt diese Beobachtung im erwarteten Rahmen (5-10% der Fälle) [1-2].

5.2 Prognoseparameter des SLK

5.2.1 Sentinel-Lymphknoten-Status

Der SLK-Status ist neben dem Breslow-Index der wichtigste prognostische Parameter beim malignen Melanom [11-13,31]. Eine Vielzahl an Studien, z.T. an großen Patientenkollektiven, zeigte dies in Bezug auf das DFS [11,15,44,49,51]. So erhöhte sich das Risiko für ein Melanomrezidiv bei Tumorzell-Nachweis im SLK um den Faktor 2 bis 6. Eine Literaturübersicht dazu bietet **Tabelle 14**. Bezüglich der Lokalrezidive zeigte eine Studie eine erhöhte Rate an In-Transit-Metastasen in SLK-positiven Fällen (20 vs. 8% in SLK-negativen Fällen) [51]. Weitere Untersuchungen bezüglich des LRFS waren nicht zu finden.

In der vorliegenden Studie war der positive SLK-Status ein starker, unabhängiger, negativer Prognoseparameter für beide Zielgrößen (HR 2,44 für Lokalrezidive, 1,98 für Rezidive insgesamt), mit einer vergleichsweise präzisen statistischen Schätzung. Dazu war der SLK-Status durch die sensitivitätserhöhende Tumorimmunhistochemie (MelanA, HMB45) einfach zu ermitteln.

Tabelle 14: Literaturübersicht zum prognostischen Einfluss des SLK-Status und der Dewar-Klassifikation auf LRFS und DFS.

Autoren	Jahr	N ges.	N SLK+	Follow-Up (\tilde{x})	Einfluss auf ...	Art der statistischen Analyse	p-Wert
<i>SLK-Status:</i>							
Gershenwald et al. [11]	1999	580	85	40 Mo.	DFS (HR 3.41; CI 2.25-5.17)	KM, Cox uni-/multivariabel	<0,001
Vuyksteke et al. [15]	2003	209	40	72 Mo.	DFS (HR 2.45; CI 1.24-4.84)	KM, Cox uni-/multivariabel	0,01
Berk et al. [49]	2005	260	39	29 Mo.	DFS (OR 5.85; CI 2.37-14.47)	Chi ² -Test, multivariabel logistische Regression	<0,001
van Akkooi et al. [12]	2006	262	77	23,3 Mo.	DFS (HR 5.71; CI 2.81–11.60), LRFS (In-Transit-Metast. nach 5a: 20 vs. 8%)	Cox uni-/multivariabel	<0,001
van der Ploeg et al. [44]	2011	-	1080	37 Mo.	DFS (HR 2.12; CI 1.62-2.79)	Cox uni-/multivariabel	<0,001
<i>vorliegende Studie</i>	<i>2014</i>	<i>346</i>	<i>86</i>	<i>34,7 Mo.</i>	<i>LRFS, DFS</i>	<i>Cox uni-/multivariabel</i>	<i>-</i>
<i>Dewar-Klassifikation:</i>							
van Akkooi et al. [51]	2006	262	77	30 Mo.	I-IV vs. V: DFS (HR 3,48; CI 1.53–7.93), Effekt nur im univariablen Modell	KM, Log-Rank-Test, Cox uni-/multivariabel	0,003
van der Ploeg et al. [44]	2011	-	951	37 Mo.	DFS (Effekt nur bezogen auf Dewar II, III und V und nur im univariablen Modell)	Chi ² -Test, KM, Cox uni-/multivariabel	<0,01
<i>vorliegende Studie</i>	<i>2014</i>	<i>346</i>	<i>86</i>	<i>34,7 Mo.</i>	<i>LRFS, DFS</i>	<i>Cox uni-/multivariat</i>	<i>-</i>
van Akkooi et al. [51]	2006	262	77	30 Mo.	kein Effekt auf DFS	Chi ² -Test	>0,05
Roka et al. [53]	2008	504	85	31 Mo.	kein Effekt auf DFS	Chi ² -Test	>0,05

Abkürzungen: N: Anzahl; \tilde{x} : Median; KM: Kaplan-Meier-Methode.

5.2.2 TPD und S-Klassifikation

Die vorliegende Studie zeigte in der S-Klasse III einen starken unabhängigen Prognosefaktor für LRFS (HR 3,59) als auch DFS (HR 2,88), dabei mit einer vergleichsweise präzisen Schätzung. Dies spiegelt sich in einer hohen Rate an Ereignissen (40% der 52 Patienten erlitten ein Lokalrezidiv; 43% ein Rezidiv insgesamt) wider. Für S I-II ermittelten wir ein protektives Effektmaß (HR 0,79 für LRFS resp. 0,85 für DFS), jedoch ist dieses Ergebnis in Anbetracht des Konfidenzintervalls nicht interpretierbar. Eine Erklärung bietet die geringe Zahl an Ereignissen in S I-II (3 Lokalrezidive (9%) und 5 Rezidive insgesamt (15%) bei „nur“ 34 Patienten), welche eine präzise statistische Evaluation deutlich erschwerte.

Zwei Studien bestätigten einen Effekt auf das krankheitsfreie Überleben [51-52], jedoch van Akkooi et al. nur in der univariablen Analyse, van der Ploeg et al. nur im Vergleich von S III mit einer fusionierten Gruppe „S I-II“ [52], analog zur vorliegenden Studie. Drei Studien beobachteten keinen Effekt auf das DFS [53-55]. Bezüglich des LRFS fanden wir eine Studie, welches unser Ergebnis bestätigte [58]. Bei der Evaluation der TPD als 500µm-Inkrement statt in S-Klassen zeigten sich hochpräzise Effektmaße für beide Zielgrößen bei einer moderaten Risikosteigerung (HR 1,25 mit 95% CI 1,14-1,37 für LRFS; HR 1,24 mit CI 1,14-1,35 für DFS). Drei Studien fanden analoge Resultate bezüglich des DFS [54,56-57], jedoch fehlt bei zwei Studien die Angabe der Höhe des Inkrements [54,56], was die Vergleichbarkeit deutlich beeinträchtigt (**Tabelle 15**). Nichts desto trotz kann das TPD-Inkrement bei der Identifikation von Patienten mit guter Prognose helfen.

Vorteile dieses Prognoseparameters sind zum einen die einfache histologische Evaluation, gegeben die Lymphknotenkapsel ist nicht zu stark beschädigt, zum anderen die exzellente Reproduzierbarkeit [120]. Limitationen fanden wir bei großen Tumorkonglomeraten, deren exakte mikroskopische Messung schwierig war. Jedoch folgten wir der Empfehlung der EORTC Melanoma Group, „keine Zeit zu vergeuden, um sehr akkurat eine sehr große Metastase auszumessen, sondern diese nach Augenmaß zu schätzen und mehr Zeit in die präzise Messung von kleinen Läsionen und denen nahe eines Grenzbereichs zu stecken“ [42].

Eine weitere Limitation ist, dass sich die S-Klassifikation stark auf die Tumorlokalisation fokussiert. So würde ein langgestreckter großer, rein subkapsulär gelagerter Tumor der Klasse I und damit der besten Prognose zugeordnet, obwohl er nach den prognostisch exzellenten Rotterdam-Kriterien (siehe **5.2.4**) aufgrund seiner Größe eine schlechte Prognose hätte. Dagegen würde ein minimales Korn im Tumorzentrum S III und damit der schlechtesten Prognose zugeordnet, obwohl dieses Korn für den weiteren Krankheitsverlauf vielleicht nur eine untergeordnete Rolle spielte [42]. Im direkten Vergleich mit der Korngröße ist die S-Klassifikation somit für die Risikoprädiktion von geringerer Güte.

Tabelle 15: Literaturübersicht zum prognostischen Einfluss der TPD kontinuierlich und als (neue) S-Klassifikation auf LRFS und DFS.

Autoren	Jahr	N ges.	N SLK+	Follow-Up (\tilde{x})	Ereignisse/Patienten je Gruppe (S I, II, III)	Einfluss auf ...	Art der statistischen Analyse	p-Wert
<i>TPD als S-Klassifikation:</i>								
Fink et al. [58]	2005	154	26	-	0/6, 0/10, 4/10	LRFS (lokoregionäre LK-Metastase)	Chi ² -Test	0,02
van Akkooi et al. [51]	2006	262	77	30 Mo.	6/27, 2/30, 2/17	Effekt auf DFS nur im univariablen Modell	KM, Log-Rank-Test, Cox uni-/multivariabel	0,02
van der Ploeg et al. [52]	2009	344	94	32 Mo.	0/16, 0/4, 6/50	3-J-DFS (I/II 83%, III 60%)	KM, Log-Rank-Test	0,40
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	0/6, 3/28, 21/52 (LRFS); 0/6, 5/28, 23/52 (DFS)	LRFS, DFS	Cox uni-/multivariabel	-
Roka et al. [53]	2008	504	85	31 Mo.	4/30, 1/9, 13/46	kein Effekt auf DFS	KM, Log-Rank-Test, Cox uni-/multivariabel	>0,05
Rossi et al. [54]	2008	457	96	42 Mo.	0/20, 5/26, 15/49	kein Effekt auf DFS	Chi ² -Test, Cox uni-/multivariabel	>0,05
Meier et al. [55]	2010	697	217	47,8 Mo.	?/65, ?/67, ?/85	kein Effekt auf DFS	Chi ² -Test, KM, Cox uni-/multivariabel	>0,05
<i>TPD als kontinuierliche Variable:</i>								
Satzger et al. [56]	2007	-	169	34,4 Mo.	-	DFS (HR 1,14; CI 1,09-1,20), Effekt nur im univariablen Modell	Cox uni-/multivariabel	0,001
Govindarajan et al. [57]	2007	-	127	31,2 Mo.	-	DFS (HR 1.1; CI 1.03–1.19, 500 µm Inkrement)	Cox uni-/multivariabel, KM	<0,05
Rossi et al. [54]	2008	457	96	42 Mo.	0/20, 5/26, 15/49	DFS (HR 1.23; CI 1.126–1.348)	Chi ² -Test, Cox uni-/multivariabel	<0,02
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	0/6, 3/28, 21/52 (LRFS); 0/6, 5/28, 23/52 (DFS)	LRFS, DFS	Cox uni-/multivariabel	-

Abkürzungen: N: Anzahl; \tilde{x} : Median.

5.2.3 Dewar-Klassifikation

Auch die Klassifikation nach Dewar et al. [75] zeigte in der vorliegenden Studie Disparitäten in ihrer prognostischen Aussagekraft. So sind die Klassen I-III und vor allem IV-V starke, unabhängige Prädiktoren für ein negatives klinisches Outcome hinsichtlich beider Zielgrößen. Während Dewar IV-V mit hohen Effektmaßen (einer fast Vervierfachung des Risikos für Lokal- und Verdreifachung des Risikos für Gesamtrezidive) und einer präzisen Schätzung einherging, war jedoch die Schätzung für Dewar I-III deutlich unpräziser. Entgegen der Erwartung eines protektiven Effektmaßes zeigte sich in Gruppe I-III ein 1,8- resp. 1,4-mal höheres Risiko für Lokal- und Gesamtrezidive. Ablesen lässt sich dieser Unterschied auch an den Ereignisraten: Dewar IV / V (38% resp. 47% Lokalrezidive und 38% resp. 60% Gesamtrezidive) gegenüber Dewar I / II / III (0% / 22% / 19% Lokalrezidive und 0% / 28% / 19% Gesamtrezidive). Es ist somit anzunehmen, dass Klasse I-III protektive (I) mit negativen (II, III) Prognoseparametern vereint – und damit das unpräzise Ergebnis bedingt. Eine separate statistische Auswertung von Dewar I war aufgrund des limitierten Patientenkollektivs nicht durchführbar.

Van der Ploeg et al. [44] bestätigten die genannte Effekte auf das DFS in einer Studie mit einer vergleichsweise hohen Fallzahl, jedoch nur für einen Teil der Klassen und nur in der univariablen Analyse [44,51]. Zwei Studien fanden keinen Einfluss auf das DFS [51,53]. Bezüglich des LRFS konnte keine Studie gefunden werden (**Tabelle 14**).

Ein Kritikpunkt der Dewar-Kriterien ist die moderate Reproduzierbarkeit, vor allem bei multifokalen oder irregulär geformten Tumorfiltreten [120]. Auch ist die Zuordnung in die Klassen I (subcapsular) und II (combined) bisweilen aufgrund einer geschädigten Kapsel schwierig. In Zusammenschau der Ergebnisse ist die Dewar-Klassifikation somit im Vergleich zu den anderen hier untersuchten Merkmalen eher ein Prognoseparameter zweiter Ordnung.

5.2.4 Korngrösse und Rotterdam-Klassifikation

In der Vergangenheit wurden verschiedenste Cut-Off-Points zur Trennung von Patienten mit guter vs. schlechter Prognose anhand der Tumorgröße vorgeschlagen, unter anderem $\leq 0,5 / 0,5 - 2,0 / > 2,0$ mm [76], $< / > 2,0$ mm [121-123] und $\leq / > 3,0$ mm [59]. Auch Submikrometastasen ($\leq 100 \mu\text{m}$) [124] und isolierte Tumorzellen [63,125-126] wurden analysiert. Dabei zeigte die Korngröße immer einen prädiktiven Einfluss auf die Zielgrößen, unabhängig von deren Stratifizierung. Wir entschieden uns in Anlehnung der aktuellen Empfehlung der EORTC Melanoma Group zur Evaluation des größten Korns als kontinuierliche Variable sowie im Rahmen der Rotterdam-Klassifikation ($<100 \mu\text{m}$, $100-1000 \mu\text{m}$, $>1000 \mu\text{m}$) [51].

Diskussion

Die vorliegende Studie zeigte, dass die Klasse III mit fast einer Vervierfachung des Risikos für ein Lokalrezidiv und einer Verdreifachung des Risikos für ein Gesamt-Rezidiv bei einer vergleichsweise präzisen statistischen Schätzung einherging. Damit ist Rotterdam III der stärkste Prädiktor der gesamten Studie. Dies spiegelt sich auch in den absoluten Zahlen wieder: 15 von 33 Patienten (46%) in Rotterdam III erlitten ein Lokalrezidiv gegenüber 9 von 53 (17%) in Rotterdam I-II; 17 von 33 Patienten (52%) in Klasse III erlitten ein Melanomrezidiv insgesamt gegenüber 11 von 53 (21%) in Klasse I-II. Für Rotterdam I-II ergab sich, entgegen der Erwartungen, eine Risikoerhöhung um den Faktor 1,54 (LRFS) respektive 1,30 (DFS), jedoch ist die Schätzung weniger präzise. Eine separate Evaluation der Klassen I und II, ergo eine mögliche Identifikation von Patienten mit guter Prognose, gelang im Rahmen dieser Studie nicht. Damit kann keine Aussage dazu getroffen werden, ob man o.g. Patienten trotz des Tumornachweises im SLK wie SLK-negative Patienten behandeln kann, ohne Sie prognostisch zu benachteiligen [44,51]. Eine These, die auch Gegner hat: Murali et al. zeigten in einer Studie, dass 5 von 24 Patienten in Rotterdam I innerhalb eines medianen Follow-Up von 40 Monaten am Melanom verstarben und ein weiterer Patient ein Rezidiv erlitt [60]. Daraus folgerten sie, dass die maximale Korngröße als alleiniges Prognosekriterium nicht genügt. Diese Meinung teilen wir. In Anbetracht der mannigfaltigen Prognoseparameter mit validen prognostischen Effekten ist es keine gute Praxis, Patienten bei nicht stattgehabter kompletter Lymphadenektomie der Gefahr eines Rezidivs achtlos auszusetzen, wenn in Zusammenschau mehrerer Kriterien eine differenziertere Aussage möglich wäre. Jedoch zeigt sich damit auch, dass eine Fusion der Patienten in Rotterdam I-II erst recht kein valider Weg zur Identifikation von Patienten mit exzellenter Prognose ist. Die Lösung läge in der Auswertung größerer Patientenkollektive, die am Standort Halle jedoch derzeit nicht zur Verfügung stehen.

Bei Analyse der Korngröße als 500 μ m-Inkrement zeigte sich nur eine geringe Risikoerhöhung bezüglich den Lokal- (HR 1,06) und Gesamtrezidiven (HR 1,07), jedoch mit einer ausgesprochen präzisen Schätzung. Verglichen mit dem 500 μ m-Inkrement der TPD (HR 1.25 resp. 1.24) geht das Inkrement der Korngröße jedoch mit einer ca. 5-fach geringeren Risikosteigerung einher. Daher ist zu postulieren, dass ein Vordringen der Tumorzellen in Richtung des Lymphknoten-zentrums bzw. der Lymphgefäße um 500 μ m einen größeren Einfluss auf die Prognose des Patienten hat als eine Größenzunahme des Tumors um 500 μ m. Bei Betrachtung der Patienten mit einer TPD bzw. einer Korngröße größer als 1000 μ m (S- / Rotterdam-Klasse III) ergeben sich keine derartigen Unterschiede. Somit findet sich der beschriebene Effekt vor allem in frühen Metastasierungsstadien. Immerhin kann das Inkrement der Korngröße bei der Identifikation von Patienten mit vergleichsweise guter Prognose helfen.

Tabelle 16: Literaturübersicht zum prognostischen Einfluss der Korngröße kontinuierlich und als Rotterdam-Klassifikation auf LRFS und DFS.

Autoren	Jahr	N ges.	N SLK+	Follow-Up (\tilde{x})	Ereignisse pro Gruppe (Rott. I,II,III)	Einfluss auf ...	Art der statistischen Analyse	p-Wert
Korngröße als kontinuierliche Variable:								
Ranieri et al. [59]	2002	461	90	-	-	DFS (HR 1,12; CI 1,05-1,18)	Cox uni-/multivariabel, Chi ² -Test	0,0003
Satzger et al. [56]	2007	-	169	34,4 Mo.	-	DFS (HR 1,17; CI 1,11-1,23), Effekt nur im univariablen Modell	Cox uni-/multivariabel	0,001
Govindarajan et al. [57]	2007	-	127	31,2 Mo.	-	DFS (HR 1.01; CI 0.97–1.04 pro 500 µm Inkrement)	Cox uni-/multivariabel, KM	<0,05
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	1/16, 8/36, 15/34 (LRFS); 1/16, 10/36, 17/34 (DFS)	LRFS, DFS	<i>Cox uni-/multivariabel</i>	-
Korngröße als Rotterdam-Klassifikation:								
van Akkooi et al. [51]	2006	262	77	30 Mo.	0/16, 9/41, 2/17	DFS	Cox uni-/multivariabel, KM, Log-Rank-Test	0,001
Ollila et al. [61]	2009	578	90	26,4 Mo.	8/33, 10/27, 21/30	LRFS (Rate an Lokal-, In-Transit-, regionalen LK-Metastasen)	Jonckheere-Terpstra-Methode, Fisher's Exact Test, KM	<0,001
Meier et al. [55]	2010	697	217	47,8	?/85, ?/77, ?/55	DFS (I vs. II-III, HR 0,40; CI 0,21-0,77)	Cox uni-/multivariabel, Chi ² -Test, KM	0,006
van der Ploeg et al. [44]	2011	-	1080	37 Mo.	10/113, 73/457, 129/510	DFS	Cox uni-/multivariabel, Chi ² -Test, KM	<0,01
Murali et al. [60]	2011	-	409	30,8 Mo.	-	DFS	Cox uni-/multivariabel, Chi ² -Test, KM	-
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	1/16, 8/36, 15/34 (LRFS); 1/16, 10/36, 17/34 (DFS)	LRFS, DFS	<i>Cox uni-/multivariabel</i>	-

Abkürzungen: N: Anzahl; \tilde{x} :Median; KM: Kaplan-Meier-Methode.

Alle publizierten Arbeiten (Übersicht in **Tabelle 16**) untermauerten die oben genannten Resultate. So fand eine Studie einen Einfluss der Rotterdam-Klassifikation auf das LRFS [61], vier Studien an Kollektiven von bis zu 1080 SLK-positiven Patienten [44] zeigten Effekte auf das DFS [44,51,55,60]. Drei Studien fanden Effekte bei der Betrachtung der Korngröße als Inkrement [56-57,59], jedoch war bei nur einer Studie [57] die Höhe des Inkrements mit 500µm beziffert, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse einschränkt. Auch hier konnten keine Studien mit widersprüchlichen Resultaten gefunden werden.

Der Durchmesser des größten Kornes ist ein einfach zu erhebender quantitativer Parameter der Tumorlast mit einer exzellenten Reproduzierbarkeit [120]. Jedoch kann die sehr variable Form der Metastasen in den verschiedenen Schnittebenen in manchen Fällen eine Unterschätzung des maximalen Korndurchmessers bewirken, je nachdem, ob die Metastase längs, quer oder in einer anderen Ebene getroffen ist. Ein extensiveres histologisches Protokoll könnte hier Abhilfe schaffen, ist jedoch wegen der Kosten und des Aufwands für die Routinebegutachtung in den meisten Fällen nicht umsetzbar. Eine Ausweitung der Tumorarchitektur auf eine dritte Dimension (siehe **3.2.7**) brachte keinen weiteren prognostischen Informationsgewinn.

5.2.5 Intrakapsulärer Befall

Die vorliegende Studie zeigt, dass der Nachweis intrakapsulärer Tumorzellen ein starker unabhängiger und negativer Prädiktor beim malignen Melanom für Lokalrezidive (HR 2,15) als auch für Rezidive insgesamt (HR 1,69) ist. Jedoch ist der Schätzwert für das DFS weniger präzise als für das LRFS. Zusammen mit dem höheren Punktschätzer für das LRFS ist zu folgern, dass die Kapselinfiltration eher die regionale als die ferne Tumorausbreitung prognostisch abbildet. Passend zu dieser These waren alle der 9 Rezidive in der Gruppe mit SLK-Mikrometastasen lokal begrenzt (8 der 9 Lokalrezidive sind In-Transit-, ein weiteres Rezidiv eine regionale Lymphknoten-Metastase). Gegenüber der S-, Dewar- und Rotterdam-Klassifikation zeigen sich für die Kapselinfiltration geringere Effektschätzer, weshalb hier eine geringere prädiktive Kraft zu postulieren ist.

Der intrakapsuläre Befall ist ein vergleichsweise selten untersuchter prognostischer Parameter. Die Ergebnisse der vorangegangenen Studien sind diskordant (**Tabelle 17**). So postulieren 3 Studien einen Einfluss auf das krankheitsfreie Überleben [55-56,62]. Meier et al. beschrieben sogar ein hazard ratio von 0,59 [55], was bedeutet, dass sich der Kapselbefall positiv auf die Prognose auswirkt. Drei weitere Studien, eine davon mit einer vergleichsweise hohen Zahl an SLK-positiven Patienten [65], widersprachen dem Effekt auf das DFS [63-65]. Studien, die das LRFS untersuchten, konnte nicht gefunden werden.

Tabelle 17: Literaturübersicht zum prognostischen Einfluss des intra- und extrakapsulären SLK-Befalls auf LRFS und DFS.

Autoren	Jahr	N ges.	N SLK+	Follow-Up (\tilde{x})	N Kaps-inf. von SLK+	Einfluss auf ...	Art der statistischen Analyse	p-Wert
Intrakapsulärer Befall:								
Satzger et al. [56]	2007	-	169	34,4 Mo.	-	DFS	Cox multivariabel	0,037
Meier et al. [55]	2010	697	217	49,5 Mo.	-	DFS (HR 0,59; 95%-CI 0,37-0,96)	Cox multivariabel	0,03
Bertsch et al. [62]	2011	-	190	-	19 (10%)	DFS	-	0,02
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	33 (38,4%)	LRFS, DFS	Cox uni-/multivariabel	-
Satzger et al. [63]	2007	477	122	35,8 Mo.	-	kein Einfluss auf DFS (bez. auf IPCs)	KM und Chi ² -Test univariabel	>0,05
Debarbieux et al. [64]	2007	455	98	29 Mo. (\bar{x})	27 (27,6%)	kein Einfluss auf DFS (kapsuläre lymphatische Invasion)	Cox uni-/multivariabel, KM	>0,05
Cadili et al. [65]	2010	-	606	-	12 (1,6%)	kein Effekt auf DFS	Cox uni- und multivariabel, KM	>0,05
Extrakapsulärer Befall:								
Rutkowski et al. [66]	2003	726	145	30 Mo.	-	DFS (RR 2,09)	KM, Cox uni-/multivariabel	<0,05
Kretschmer et al. [67]	2006	328	96	40 Mo.	-	LRFS (In-Transit-Metast., RR 2,64)	KM, Cox univariabel	-
Lock-And. et al. [68]	2006	248	79	21 Mo.	-	DFS	-	-
Debarbieux et al. [64]	2007	455	98	29 Mo. (\bar{x})	18 (18,4%)	DFS (OR 3,81; CI 1,94–7,49)	KM, Cox uni-/multivariabel	<0,001
Satzger et al. [56]	2007	-	169	34,4 Mo.	-	DFS (HR 0,35; CI 0,18-0,65), Effekt nur im univariablen Modell	Cox uni-/multivariabel	0,001
<i>vorliegende Studie</i>	2014	346	86	34,7 Mo.	15 (17,4%)	LRFS, DFS	Cox uni-/multivariabel	-
Cadili et al. [65]	2010	-	606	-	50 (6,7%)	kein Effekt auf DFS	Cox uni-/multivariabel, KM	>0,05

Abkürzungen: N: Anzahl; \tilde{x} : Median; \bar{x} : Mittelwert; IPCs: isolierte immunhistochemisch positive Zellen, KM: Kaplan-Meier-Methode.

Gründe für die widersprüchlichen Ergebnisse liegen zum einen in der histologischen Begutachtung. So finden sich einerseits Tumorzellen in den intrakapsulären lymphatischen Gefäßen und Sinus und man kann annehmen, dass diese sich in erwarteter Ausbreitungsrichtung „auf dem Weg“ vom Primarius in die subkapsulären Sinus befinden, also Ausdruck eines geringen Ausbreitungsstadiums und damit einer günstigen Prognose sind. Dies ist ein Interpretationsansatz der Resultate von Meier et al. [55]. Zum anderen finden sich Präparate, in denen der Tumor durch sein expansives Wachstum die Kapsel durchbricht (**Abb. 7** unter **3.8.4**), ergo das Vorliegen einer aggressiveren Melanomspezies und damit einer anzunehmenden ungünstigeren Prognose. Weiterhin müssten die Tumorzellen für die Infiltration der Kapsel in der Lage sein, diese in Teilen enzymatisch aufzulösen, auch ein Zeichen fortgeschrittener Malignität. Eine Stratifizierung in a) intrakapsuläre Tumorzellen ohne Beziehung zu Lymphgefäßen und b) eine intrakapsuläre Lymphangiosis carcinomatosa könnte dieses Dilemma lösen. Eine valide Auswertung ist jedoch am vorhandenen Patientenkollektiv aufgrund der geringen Fall-/Ereigniszahl nicht durchführbar. Eine weitere Einschränkung bedeutet die mögliche Fehlidentifizierung kapsulärer benigner melanozytärer Nävuszellen als Melanomzellen. Diese können in Einzelfällen mit HMB45 reagieren. Auch trabekuläre Kalzifikationen in inguinalen und iliakalen Lymphknoten gehen nicht selten mit extrazellulärer HMB-45-Reaktivität einher [100]. Die Folge ist eine Überschätzung der Prävalenz dieses Tumorzell-Merkmals.

In Zusammenschau der Ergebnisse ist die Kapselinfiltration am ehesten ein negativer Prognoseparameter, welcher seine größte Aussagekraft bezüglich der lokoregionären Ausbreitung hat. Wegen der geringen Effektgröße, der nicht eindeutigen Studienlage und den potentiellen Fallstricken der Immunhistochemie ist er im Vergleich zu den anderen untersuchten Merkmalen eher ein Prognoseparameter zweiter Ordnung.

5.2.6 Extrakapsulärer Befall

In der vorliegenden Studie zeigte sich in der extrakapsulären Tumorausbreitung (EKA) ein ausgesprochen starker unabhängiger und negativer Prognoseparameter für das Melanom (HR 3,24 für LRFS; 2,34 für DFS), jedoch mit einer vergleichsweise geringen Präzision. Analog zur Kapselinfiltration ist der prognostische Einfluss auf die lokale Ausbreitung größer als auf die systemische. Jedoch ist das Risikoinkrement für ein Rezidiv insgesamt bei Vorliegen einer EKA mit 134% deutlich stärker als für die Kapselinfiltration (69%), ergo ist zur Beschreibung dieses Risikos die EKA hier vorzuziehen.

Die EKA ist ein seltenes, aber prognostisch bedeutendes Detail der histologischen Detektion von Lymphknotenmetastasen beim Melanom (**Tabelle 17**) und anderer Tumorentitäten [127-129]. Drei Studien bestätigen einen Einfluss auf das DFS [56,66,68]. Satzger et al. postulierten sogar ein protektives Effektmaß (HR 0,35), jedoch nur in der univariablen Analyse [56]. Nur ein gegensätzliches Ergebnis bezüglich des DFS konnte gefunden werden [65]. Eine weitere Studie sah einen Einfluss auf das LRFS, genauer im Risiko für In-Transit-Metastasen [67].

Wir sehen in der EKA ein Zeichen der lokalen Aggressivität der Tumorzellen. Diese müssen die Fähigkeit besitzen, neben der Ablösung aus dem Primärtumorverband die kollagenhaltige Lymphknotenkapsel enzymatisch aufzulösen und konsekutiv zu durchbrechen. Damit würde ein früher Zugang zu den perinodalen Blutgefäßen geschaffen und eine Tumorzellstreuung begünstigt. Das erklärt das höhere Risikoinkrement bezüglich des LRFS als für das DFS, da nach dem Ausbrechen aus dem bekapselten Lymphknoten zuerst lokale Metastasen folgen, bevor die Streuung über Blut- und Lymphgefäße systemisch fortschreitet. Das protektive Effektmaß der Untersuchung von Satzger et al. ist in unseren Augen nur dadurch erklärlich, dass sie mit dem Nachweis von Tumorzellen in extranodalen afferenten Lymphgefäßen ein frühes Streuungsstadium abbildeten (siehe auch **Abb.9** unter **3.7.5**). Eine detaillierte Analyse von a) extranodalen extralymphovaskulären und b) extranodalen intralymphovaskulären Tumorzellen könnte Aufklärung bringen, bedarf jedoch größerer Fallzahlen, welche im Augenblick nicht zur Verfügung stehen. In der vorliegenden Studie fassten wir beide Kategorien als EKA zusammen und erhielten trotzdem hohe negative Effektschätzer. Somit scheint die EKA ein negativer prognostischer Parameter zu sein.

Ein Kritikpunkt der EKA ist ihre im Gegensatz zu quantitativen Maßen wie der TPD oder der Korngröße nur mäßiggradige Reproduzierbarkeit [120,130]. Weiterhin kann eine ausgeprägte Fibrose oder Desmoplasie des Lymphknotenparenchyms zu fehlerhafter Beurteilung der Lagebeziehung zur Lymphknotenkapsel führen [120]. Auffällig war in unserer Studie die vergleichsweise hohe Prävalenz des Merkmals (17,4%; in vorangegangenen Studien im Mittel 11,5%). Wir fanden eine starke Koinzidenz von EKA mit einem ausgedehnten Tumorbefall des SLK. Somit ist zu postulieren, dass die Tumorzellen in manchen Fällen nicht „selbstständig“ das extrakapsuläre zumeist subkutane Fettgewebe erreichten, sondern durch die schiere Größe des Tumorkonglomerats mechanisch in diese Position gebracht wurden. So kommt es zur Vermischung der Effekte von Korngröße und EKA und es resultiert eine erhöhte Rate an falsch-positiver Merkmalsprävalenz. In Zusammenschau der Ergebnisse ist die EKA ein starker unabhängiger Prognoseparameter erster Güte und sollte routinemäßig in der SLK-Befundung erfasst werden.

5.2.7 PosNCutRate und 3D-Modell der Tumorarchitektur

Interessanterweise lieferte die Rate der tumorbefallenen histologischen Schnitte eines SLK (PosNCutRate) hochpräzise (CLR 1,4 respektive 1,3), wenngleich vergleichsweise geringe Effektmaße. So war bei Inkrement der PosNCutRate um 10% eine Risikoerhöhung für ein Lokalrezidive um 26%, für Rezidive insgesamt um 22% zu verzeichnen. Vergleichbare Studien konnten nicht gefunden werden. Im direkten Vergleich ist das TPD-Inkrement bei vergleichbarer Punktschätzung (HR 1,25 für LRFS resp. 1,24 für DFS) noch etwas präziser (CLR 1,2 resp. 1,2) und im direkten Vergleich der PosNCutRate vorzuziehen.

Das postulierte Modell zur Darstellung der 3-dimensionalen Tumorarchitektur erbrachte keine zusätzliche prognostische Information. Selbst bei einem sehr großen Inkrement von 400.000 μm^2 , ein Tumorcluster von 1000 x 500 μm repräsentierend in 80% der Schnitte (!) sind die gewonnenen Punktschätzer nur marginal (HR 1,04 resp. 1,05). Die Erklärung könnte im oftmals irregulären Aufbau wie der Orientierung des Tumors im Lymphknoten liegen, welcher mathematisch in den seltensten Fällen einer Kugel, Ellipse oder etwas annähernd Geometrischem entspricht. Vergleichbare Studien waren auch hier nicht zu finden.

5.3 Limitationen und Stärken der Studie

Die vorliegende Studie hat mehrere Einschränkungen. Erstens, durch den monozentrischen Ansatz umfasste sie nur eine limitierte Anzahl an Patienten. Die damit einhergehende geringe statistische Präzision einiger Ergebnisse verhinderte die klare Interpretation einzelner Parameter. Zur Fallzahlerhöhung würde die Kooperation mit anderen SLKB-Zentren helfen. Dies brächte jedoch die klassischen Fallstricke einer multizentrischen Studie wie multiple Untersucher, Fehler in der Standardisierung der Datenerhebung und in der Datenfusion mit sich. Zweitens, wir entschieden uns für ein histologisches Protokoll mit MelanA und HMB 45, daher war mit einer erhöhten Rate falsch-negativer Befunde gegenüber einem Protokoll mit S-100 zu rechnen. Jedoch ist schon in der konventionellen Histologie durch erfahrene Begutachter von einer hohen Sensitivität auszugehen. Dazu forderte unser Protokoll gar ein Minimum an 20 Schnitten pro Färbung über den gesamten Lymphknoten und ist somit aufwendiger als das aktuelle „melanoma group sentinel node pathology protocol“ der EORTC (20 Schnitte verteilt auf 6 Schnittebenen von 50, 100, 150, 200 und 250 μm abwechselnd mit HE und Immunhistochemie gefärbt) [42,131]. Die aktuelle deutsche S3-Leitlinie „Malignes Melanom“ [3] gibt hierzu keine bindende Empfehlung. Es wurde gezeigt, dass ein erhöhter Aufwand bei Schnittfolgen und histopathologischer Untersuchung der SLK die Rate an detektierten Metastasen erhöht [131-134]. Theoretisch wäre es wünschenswert, den gesamten SLK in

wenige Mikrometer dünne Paraffinschnitte aufzuarbeiten und zu analysieren. Je nach dessen Größe würden dabei jedoch hunderte bis tausende Schnitte anfallen und der Zeit- und Kostenfaktor ins nahezu Unermessliche getrieben werden [100]. Es wurde kürzlich gezeigt, dass sich Melanometastasen nicht an präferierten Orten des LK wiederfinden [135]. Damit zeigt sich, wie ausgesprochen wichtig es ist, den kompletten LK aufzuschneiden und in möglichst vielen Schnittebenen zu begutachten [60]. In der Literatur sind falsch-negative Raten von 2-3 % beschrieben [51,136-139]. Neben dem histologischen Protokoll sind die teils hochvariable Expression der melanozytären Epitope, eine fehlerbehaftete nuklearmedizinische Identifikation des echten SLK (z.B. Verstopfung der afferenten Lymphkollektoren durch Tumormaterial) [140] sowie heterogene und postoperativ alterierte Lymphabflusswege [141] potentielle weitere Ursachen. Fehler durch die komplexe Anatomie der Drainage im Kopf-Hals-Bereich wurden durch den Studien-Ausschluss aller Patienten mit diesem Merkmal vermieden (siehe 3.2).

Drittens, das Problem der begrenzten Nachbeobachtungszeit wurde bereits in 5.1 besprochen.

Viertens, die vorliegende Studie hat die bekannten Nachteile eines retrospektiven Studiendesigns wie die geringe Eignung bei selten auftretenden Expositionen (hier: S I, Dewar I, Rotterdam I) und die Anfälligkeit für Bias. Auf dem retrospektiven Weg können letztlich keine abschließenden Beweise für einen Zusammenhang gefunden werden, sondern nur eine empirische Evidenz zur Untermauerung der Hypothesen. Jedoch sprechen die Möglichkeit der Analyse mehrerer Expositionen (hier: die sechs Prognoseparameter) und der überschaubare zeitliche Rahmen sowie der Kostenfaktor für dieses Studiendesign [142-143]. Eine abschließende Bewertung der histopathologischen Parameter hinsichtlich Ihres prognostischen Aussagewertes ermöglicht jedoch nur eine große randomisierte, prospektive klinische Studie.

Die Stärke der vorliegenden Studie liegt in der hoch standardisierten monozentrischen Erfassung einer breiten Palette von histopathologischen Parametern sowie der Betreuung aller Patienten von der Primärtumor-Exzision über die histopathologische Befundung bis zur Nachsorge durch wenige spezialisierte wie erfahrene Mitarbeiter der Universitäts-Hautklinik. Des Weiteren identifizierten wir mittels kausaler Graphen fünf wesentliche Confounder und adjustierten für diese im Cox-Modell. Dies reduzierte, wie in **Tabelle 12** unter 4.2.1 zu sehen, bei jedem einzelnen erfassten Parametern deutlich die Effektschätzer und verhinderte somit eine Überschätzung des untersuchten Risikos. Zuletzt analysierten wir als eine von bis dato sehr wenigen Studien für TPD und Korngröße die Risikozunahme bei einem Inkrement um 500µm. Dies lieferte ausgesprochen präzise Schätzmaße und ist eine nützliche Ergänzung zu den jeweiligen Klassifikationen, welche vor allem in SI-II und Rotterdam I-II aufgrund niedriger Patienten- / Ereigniszahlen nur eine eingeschränkte Prognoseprädiktion ermöglichen.

5.4 Vorschlag für ein Routineprotokoll zur SLK-Begutachtung

(modifiziert nach Murali et al. 2009, Figure 1 [120])

Materialien:

- Ein Minimum an 20 repräsentativen histologischen Schnitten in den Färbungen Hämatoxylin-Eosin, MelanA und HMB45 je entnommenen SLK
- Lichtmikroskop mit der Fähigkeit der Messung metrischer Daten
- Datenblatt für die erhobenen Befunde (maximale Messwerte pro SLK), bei Entnahme von ≥ 2 SLK zählt der maximale Wert pro Patient

Messwerte:

A) Sentinel-LK-Status: SLK-Befall durch Melanomzellen in mindestens einem Schnitt: ja/nein

B) quantitative Tumorparameter:

- 1) TPD als kontinuierliche Variable in μm
- 2) TPD als S-Klassifikation: I ($\leq 300 \mu\text{m}$), II (300 - 1000 μm), III ($> 1000 \mu\text{m}$)
- 3) Durchmesser des größten Tumorzellhaufens als kontinuierliche Variable in μm
- 4) Größter Tumorzellhaufen als Rotterdam-Klassifikation:
I ($< 100 \mu\text{m}$), II (100 – 1000 μm), III ($> 1000 \mu\text{m}$)

C) qualitative Tumormaße:

- 1) Mikroanatomische Lokalisation nach Dewar:
I (subcapsular), II (combined), III (parenchymal), IV (multifocal), V (extensive)
- 2) Kapselinfiltration: ja/nein
- 3) Extrakapsuläre Tumorausbreitung: ja/nein

6. Zusammenfassung

Es ist allgemeiner Konsens, dass kein einzelner histologischer Parameter die Konfiguration des Tumorbefalls im SLK sowie die Prognose der Patienten vollständig widerspiegelt. Wir fanden, dass der SLK-Status (Melanom-Befall ja/nein), S-Klasse III, Rotterdam-Klasse III und die extrakapsuläre Ausbreitung die stärkste prognostische Aussagekraft bezüglich lokalrezidivfreien (LRFS) und gesamtrezidivfreien Überlebens (DFS) haben. Die Kapselinfiltration lieferte primär eine Aussage zum LRFS, sekundär zum DFS. Die 500 µm Inkremente von TPD und nachgeordnet der Korngröße zeigten hochpräzise Effektschätzer, welche bei der Identifikation von Patienten mit guter Prognose einen entscheidenden Beitrag leisten könnten. Die Dewar-Klassifikation ist aufgrund ihrer vielen indistinkten Klassen für die Routinebegutachtung ungeeignet. Ihre prognostische Kraft, vor allem in Dewar IV-V, ist hoch, aber unpräzise und kann durch die ebenso hohen, aber präziseren Effektmaße von S III und Rotterdam III weitgehend ersetzt werden. Die PosNCutRate und das postulierte 3D-Modell der Tumorarchitektur verbesserten die Prognoseprädiktion nicht.

Die hier untersuchten Parameter und Klassifikationen sind jedoch bisher nur Modelle für das Metastasierungsgeschehen und bilden die Wirklichkeit sicher nicht optimal ab. Ausgedehnte Befunde mit entsprechend hoher Einordnung in den Klassifikationen zeigen scheinbar eine schlechte Prognose an, wohingegen ein Nachweis eines protektiven Effektmaßes für die Fälle in den „niedrigen Klassen“ ausbleibt. Diese sind jedoch den „hohen Klassen“ nicht exakt entgegengestellt und die statistische Aussagekraft ist aufgrund der deutlich geringeren Zahl an Fällen wie Ereignissen hier deutlich kritischer zu hinterfragen. Es müsste die Fallzahl erhöht werden, dadurch ist aber die Homogenität der Studie in Gefahr. Hier kann das Inkrement an TPD bzw. Korngröße eine nützliche Zusatzinformation bieten und sollte in Zukunft häufiger ermittelt werden.

Eine weitere wichtige Ergänzung brachte die Anwendung der kausalen Graphen (DAGs) in der statistischen Analyse. Nach der Adjustierung für die hierdurch identifizierten Confounder zeigte sich in allen getesteten Fällen ein deutlicher Zugewinn an Trennschärfe. So wurde in allen Fällen eine Überschätzung des untersuchten Risikos verhindert. DAGs sowie konsekutiv die multivariable statistische Analyse sollten somit fester Bestandteil jeder vergleichbaren Studie sein.

Für eine zukünftige optimale Prognoseprädiktion ist eine Zusammenfassung von Prognoseparametern zu empfehlen, die einfach, reproduzierbar und von hohem prädiktiven

Zusammenfassung

Wert sind. Dabei sollten sowohl klinische (Alter, Geschlecht), Primärtumor- (Breslow-Index, Ulzeration, Mitosen) als auch SLK-Daten mit erwiesenem prognostischen Nutzen zusammengeführt werden. Einzelne Scores [70,144-145], Modelle [76,146-147] und Flussdiagramme [148-149] sind bereits publiziert. Deren Einsatzfähigkeit ist aber umstritten, da sie meistens anhand selektiver Patientenkollektive extrapoliert und damit nicht allgemeingültig sind. Um dies sicherzustellen, bedarf es in Zukunft einer Validierung in großen, prospektiv randomisierten Studien. Bis diese Fragen endgültig beantwortet sind, sollte vorerst die maximale nutzbringende Zahl an histologischen Parametern erhoben werden.

Unsere Resultate zeigen, dass die gründliche histologische Evaluation des Sentinel-Lymphknotens wichtige Aussagen zum lokalrezidivfreien- und krankheitsfreien Überleben liefert. Diese könnten somit als Grundlage bei individuellen Therapieentscheidung, von Nachbeobachtungsintervallen und nicht zuletzt als Einschlusskriterien für klinische Studien fungieren.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Spatz A, Grob JJ, Malvey J, Newton-Bishop J, Stratigos A, Pehamberger H, Eggermont AM (2012) Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline (Update 2012). *Eur J Cancer* 48:2375-2390.
- [2] Roesch A, Berking C: Melanom. In: Plewig G, Landthaler M, Burgdorf WHC, Hertl M, Ruzicka T (Hrsg): *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*. 6. Auflage, Band 2. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 2012, S. 1710-1711.
- [3] Pflugfelder A, Kochs C, Blum A, Capellaro M, Czeschik C, Dettenborn T, Dill D, Dippel E, Eigentler T, Feyer P, Follmann M, Frerich B, Ganten MK, Gartner J, Gutzmer R, Hassel J, Hauschild A, Hohenberger P, Hubner J, Kaatz M, Kleeberg UR, Kölbl O, Kortmann RD, Krause-Bergmann A, Kurschat P, Leiter U, Link H, Loquai C, Löser C, Mackensen A, Meier F, Mohr P, Möhrle M, Nashan D, Reske S, Rose C, Sander C, Satzger I, Schiller M, Schlemmer HP, Strittmatter G, Sunderkötter C, Swoboda L, Trefzer U, Voltz R, Vordermark D, Weichenthal M, Werner A, Wesselmann S, Weyergraf AJ, Wick W, Garbe C, Schadendorf D (2013) Malignes Melanom S3-Leitlinie "Diagnose, Therapie und Follow-up des Melanoms". *J Dtsch Dermatol Ges* 11 Suppl 6:1-116, 111-126.
- [4] Tronnier M, Semkova K, Wollina U, Tchernev G (2013) Malignant melanoma: epidemiologic aspects, diagnostic and therapeutic approach. *Wien Med Wochenschr* 163:354-358.
- [5] Carlson GW (2004) Age and the incidence of sentinel lymph node metastases in melanoma. *Ann Surg Oncol* 11:236-237.
- [6] Gershenwald JE, Ross MI (2011) Sentinel-lymph-node biopsy for cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 364:1738-1745.
- [7] Schmid-Wendtner M, Wendtner CM (2012) Malignes Melanom. *Dtsch Med Wochenschr* 137:2548-2550.
- [8] Tronnier M, Mitteldorf C (2014) Treating advanced melanoma: current insights and opportunities. *Cancer Manag Res* 6:349-356.
- [9] Göhl J, Hohenberger W, Merkel S (2009) Malignes Melanom. *Chirurg* 80:559-567.
- [10] Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, Buzaid AC, Cochran AJ, Coit DG, Ding S, Eggermont AM, Flaherty KT, Gimotty PA, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MC, Jr., Morton DL, Ross MI, Sober AJ, Sondak VK (2009) Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 27:6199-6206.

- [11] Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH, Lee JJ, Balch CM, Reintgen DS, Ross MI (1999) Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 17:976-983.
- [12] van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, Graveland WJ, van Geel AN, Kliffen M, Eggermont AM (2006) High positive sentinel node identification rate by EORTC melanoma group protocol. Prognostic indicators of metastatic patterns after sentinel node biopsy in melanoma. *Eur J Cancer* 42:372-380.
- [13] Estourgie SH, Nieweg OE, Valdes Olmos RA, Hoefnagel CA, Kroon BB (2003) Review and evaluation of sentinel node procedures in 250 melanoma patients with a median follow-up of 6 years. *Ann Surg Oncol* 10:681-688.
- [14] Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Reintgen DS, Cascinelli N, Urist M, McMasters KM, Ross MI, Kirkwood JM, Atkins MB, Thompson JA, Coit DG, Byrd D, Desmond R, Zhang Y, Liu PY, Lyman GH, Morabito A (2001) Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol* 19:3622-3634.
- [15] Vuylsteke RJ, van Leeuwen PA, Stadius Muller MG, Gietema HA, Kragt DR, Meijer S (2003) Clinical outcome of stage I/II melanoma patients after selective sentinel lymph node dissection: long-term follow-up results. *J Clin Oncol* 21:1057-1065.
- [16] Virchow R: *Allgemeine Physiologie der Geschwülste* (Dritte Vorlesung vom 22.11.1862). Reprint 1. Auflage, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1978, S. 41-42.
- [17] Bembenek A, Gretschel S, Ulmer C, Bayraktar S, Schlag PM (2003) Sentinel-Node-Biopsie - Definition, historische Entwicklung und methodisches Vorgehen. *Onkologe* 9:599-610.
- [18] Gray JH (1939) The relation of lymphatic vessels to the spread of cancer. *Br J Surg* 26:462-495.
- [19] Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH (1960) Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. *Cancer* 13:77-78.
- [20] Cabanas RM (1977) An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 39:456-466.
- [21] Satzger I, Klein M, Löser C, Reske S, Kapp A, Gutzmer R (2010) Schildwächterlymphknotenbiopsie beim Melanom. *Onkologe* 16:1140-1149.
- [22] Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ (1992) Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 127:392-399.

- [23] Cochran AJ, Wen DR, Morton DL (1988) Occult tumor cells in the lymph nodes of patients with pathological stage I malignant melanoma. An immunohistological study. *Am J Surg Pathol* 12:612-618.
- [24] Kretschmer L, Hilgers R, Möhrle M, Balda BR, Breuninger H, Konz B, Kunte C, Marsch WC, Neumann C, Starz H (2004) Patients with lymphatic metastasis of cutaneous malignant melanoma benefit from sentinel lymphonodectomy and early excision of their nodal disease. *Eur J Cancer* 40:212-218.
- [25] Bowsher WG, Taylor BA, Hughes LE (1986) Morbidity, mortality and local recurrence following regional node dissection for melanoma. *Br J Surg* 73:906-908.
- [26] Lyons JH, 3rd, Cockerell CJ (1994) Elective lymph node dissection for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 30:467-480.
- [27] Scott RN, McKay AJ (1993) Elective lymph node dissection in the management of malignant melanoma. *Br J Surg* 80:284-288.
- [28] Jennings L, Murphy GM (2009) Predicting outcome in melanoma: where are we now? *Br J Dermatol* 161:496-503.
- [29] Kretschmer L, Thoms KM, Peeters S, Haenssle H, Bertsch HP, Emmert S (2008) Postoperative morbidity of lymph node excision for cutaneous melanoma-sentinel lymphonodectomy versus complete regional lymph node dissection. *Melanoma Res* 18:16-21.
- [30] van Akkooi AC, Bouwhuis MG, van Geel AN, Hoedemaker R, Verhoef C, Grunhagen DJ, Schmitz PI, Eggermont AM, de Wilt JH (2007) Morbidity and prognosis after therapeutic lymph node dissections for malignant melanoma. *Eur J Surg Oncol* 33:102-108.
- [31] Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, Elashoff R, Essner R, Glass EC, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Wang HJ (2005) Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 242:302-311; discussion 311-313.
- [32] de Vries M, Vonkeman WG, van Ginkel RJ, Hoekstra HJ (2006) Morbidity after inguinal sentinel lymph node biopsy and completion lymph node dissection in patients with cutaneous melanoma. *Eur J Surg Oncol* 32:785-789.
- [33] de Vries M, Vonkeman WG, van Ginkel RJ, Hoekstra HJ (2005) Morbidity after axillary sentinel lymph node biopsy in patients with cutaneous melanoma. *Eur J Surg Oncol* 31:778-783.
- [34] Hoimyr H, Rokkones KA, von Sperling ML, Finnerup K, Jensen TS, Finnerup NB (2011) Persistent pain after lymph node excision in patients with malignant melanoma is neuropathic. *Pain* 152:2721-2728.

- [35] Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhovd IO, Caceres E, Cascinelli N, Claudio F, Ikonopisov RL, Javorskij VV, Kirov S, Kulakowski A, Lacoub J, Lejeune F, Mechl Z, Morabito A, Rode I, Sergeev S, van Slooten E, Szczygiel K, Trapeznikov NN (1977) Inefficacy of immediate node dissection in stage 1 melanoma of the limbs. *N Engl J Med* 297:627-630.
- [36] Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, MacKie RM, Belli F (1998) Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. WHO Melanoma Programme. *Lancet* 351:793-796.
- [37] Sim FH, Taylor WF, Pritchard DJ, Soule EH (1986) Lymphadenectomy in the management of stage I malignant melanoma: a prospective randomized study. *Mayo Clin Proc* 61:697-705.
- [38] Balch CM, Soong SJ, Bartolucci AA, Urist MM, Karakousis CP, Smith TJ, Temple WJ, Ross MI, Jewell WR, Mihm MC, Barnhill RL, Wanebo HJ (1996) Efficacy of an elective regional lymph node dissection of 1 to 4 mm thick melanomas for patients 60 years of age and younger. *Ann Surg* 224:255-263; discussion 263-266.
- [39] Balda BR, Starz H (2003) Sentinel-Lymphonodektomie bei malignen Melanomen. *Onkologie* 9:611-617.
- [40] Cochran AJ, Balda BR, Starz H, Bachter D, Krag DN, Cruse CW, Pijpers R, Morton DL (2000) The Augsburg Consensus. Techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. *Cancer* 89:236-241.
- [41] van Akkooi AC, Nowecki ZI, Voit C, Schafer-Hesterberg G, Michej W, de Wilt JH, Rutkowski P, Verhoef C, Eggermont AM (2008) Sentinel node tumor burden according to the Rotterdam criteria is the most important prognostic factor for survival in melanoma patients: a multicenter study in 388 patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg* 248:949-955.
- [42] van Akkooi AC, Spatz A, Eggermont AM, Mihm M, Cook MG (2009) Expert opinion in melanoma: the sentinel node; EORTC Melanoma Group recommendations on practical methodology of the measurement of the microanatomic location of metastases and metastatic tumour burden. *Eur J Cancer* 45:2736-2742.
- [43] Cochran AJ, Ohsie SJ, Binder SW (2008) Pathobiology of the sentinel node. *Curr Opin Oncol* 20:190-195.
- [44] van der Ploeg AP, van Akkooi AC, Rutkowski P, Nowecki ZI, Michej W, Mitra A, Newton-Bishop JA, Cook M, van der Ploeg IM, Nieweg OE, van den Hout MF, van Leeuwen PA, Voit CA, Cataldo F, Testori A, Robert C, Hoekstra HJ, Verhoef C, Spatz A, Eggermont AM (2011) Prognosis in patients with sentinel node-positive melanoma

- is accurately defined by the combined Rotterdam tumor load and Dewar topography criteria. *J Clin Oncol* 29:2206-2214.
- [45] Balch CM, Morton DL, Gershenwald JE, McMasters KM, Nieweg OE, Powell B, Ross MI, Sondak VK, Thompson JF (2009) Sentinel node biopsy and standard of care for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 60:872-875.
- [46] Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Glass EC, Wang HJ (2006) Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 355:1307-1317.
- [47] Medalie N, Ackerman AB (2004) Sentinel node biopsy has no benefit for patients whose primary cutaneous melanoma has metastasized to a lymph node and therefore should be abandoned now. *Br J Dermatol* 151:298-307.
- [48] Morton DL, Cochran AJ (2004) The case for lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in the management of primary melanoma. *Br J Dermatol* 151:308-319.
- [49] Berk DR, Johnson DL, Uzieblo A, Kiernan M, Swetter SM (2005) Sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma: the Stanford experience, 1997-2004. *Arch Dermatol* 141:1016-1022.
- [50] Doubrovsky A, De Wilt JH, Scolyer RA, McCarthy WH, Thompson JF (2004) Sentinel node biopsy provides more accurate staging than elective lymph node dissection in patients with cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 11:829-836.
- [51] van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, Schmitz PI, van Geel AN, Eggermont AM, Kliffen M (2006) Clinical relevance of melanoma micrometastases (<0.1 mm) in sentinel nodes: are these nodes to be considered negative? *Ann Oncol* 17:1578-1585.
- [52] van der Ploeg IM, Kroon BB, Antonini N, Valdes Olmos RA, Nieweg OE (2009) Is completion lymph node dissection needed in case of minimal melanoma metastasis in the sentinel node? *Ann Surg* 249:1003-1007.
- [53] Roka F, Mastan P, Binder M, Okamoto I, Mittlboeck M, Horvat R, Pehamberger H, Diem E (2008) Prediction of non-sentinel node status and outcome in sentinel node-positive melanoma patients. *Eur J Surg Oncol* 34:82-88.
- [54] Rossi CR, De Salvo GL, Bonandini E, Mocellin S, Foletto M, Pasquali S, Pilati P, Lise M, Nitti D, Rizzo E, Montesco MC (2008) Factors predictive of nonsentinel lymph node involvement and clinical outcome in melanoma patients with metastatic sentinel lymph node. *Ann Surg Oncol* 15:1202-1210.

- [55] Meier A, Satzger I, Volker B, Kapp A, Gutzmer R (2010) Comparison of classification systems in melanoma sentinel lymph nodes--an analysis of 697 patients from a single center. *Cancer* 116:3178-3188.
- [56] Satzger I, Volker B, Al Ghazal M, Meier A, Kapp A, Gutzmer R (2007) Prognostic significance of histopathological parameters in sentinel nodes of melanoma patients. *Histopathology* 50:764-772.
- [57] Govindarajan A, Ghazarian DM, McCready DR, Leong WL (2007) Histological features of melanoma sentinel lymph node metastases associated with status of the completion lymphadenectomy and rate of subsequent relapse. *Ann Surg Oncol* 14:906-912.
- [58] Fink AM, Weihsengruber F, Spangl B, Feichtinger H, Lilgenau N, Rappersberger K, Jurecka W, Steiner A (2005) S-classification of sentinel lymph node biopsy predicts the results of complete regional lymph node dissection. *Melanoma Res* 15:267-271.
- [59] Ranieri JM, Wagner JD, Azuaje R, Davidson D, Wenck S, Fyffe J, Coleman JJ, 3rd (2002) Prognostic importance of lymph node tumor burden in melanoma patients staged by sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol* 9:975-981.
- [60] Murali R, Desilva C, Thompson JF, Scolyer RA (2011) Factors predicting recurrence and survival in sentinel lymph node-positive melanoma patients. *Ann Surg* 253:1155-1164.
- [61] Ollila DW, Ashburn JH, Amos KD, Yeh JJ, Frank JS, Deal AM, Long P, Thomas ND, Meyers MO (2009) Metastatic melanoma cells in the sentinel node cannot be ignored. *J Am Coll Surg* 208:924-929; discussion 929-930.
- [62] Bertsch HP, Kretschmer L (2011) Assessment of capsular melanoma cell deposits in sentinel lymph nodes. *Cancer* 117:2821; author reply 2821.
- [63] Satzger I, Volker B, Meier A, Schenck F, Kapp A, Gutzmer R (2007) Prognostic significance of isolated HMB45 or Melan A positive cells in Melanoma sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol* 31:1175-1180.
- [64] Debarbieux S, Duru G, Dalle S, Beatrix O, Balme B, Thomas L (2007) Sentinel lymph node biopsy in melanoma: a micromorphometric study relating to prognosis and completion lymph node dissection. *Br J Dermatol* 157:58-67.
- [65] Cadili A, Scolyer RA, Brown PT, Dabbs K, Thompson JF (2010) Total sentinel lymph node tumor size predicts nonsentinel node metastasis and survival in patients with melanoma. *Ann Surg Oncol* 17:3015-3020.
- [66] Rutkowski P, Nowecki ZI, Nasierowska-Guttmejer A, Ruka W (2003) Lymph node status and survival in cutaneous malignant melanoma--sentinel lymph node biopsy impact. *Eur J Surg Oncol* 29:611-618.

- [67] Kretschmer L, Beckmann I, Thoms KM, Mitteldorf C, Bertsch HP, Neumann C (2006) Factors predicting the risk of in-transit recurrence after sentinel lymphonodectomy in patients with cutaneous malignant melanoma. *Ann Surg Oncol* 13:1105-1112.
- [68] Lock-Andersen J, Horn J, Sjostrand H (2006) Prognosis after sentinel node biopsy in malignant melanoma. *Ugeskr Laeger* 168:2457-2462.
- [69] Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Puleo CA, Coventry BJ, Kashani-Sabet M, Smithers BM, Paul E, Kraybill WG, McKinnon JG, Wang HJ, Elashoff R, Faries MB (2014) Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 370:599-609.
- [70] Murali R, Desilva C, Thompson JF, Scolyer RA (2010) Non-Sentinel Node Risk Score (N-SNORE): a scoring system for accurately stratifying risk of non-sentinel node positivity in patients with cutaneous melanoma with positive sentinel lymph nodes. *J Clin Oncol* 28:4441-4449.
- [71] Satzger I, Volker B, Meier A, Kapp A, Gutzmer R (2008) Criteria in sentinel lymph nodes of melanoma patients that predict involvement of nonsentinel lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 15:1723-1732.
- [72] Starz H, Balda BR, Kramer KU, Buchels H, Wang H (2001) A micromorphometry-based concept for routine classification of sentinel lymph node metastases and its clinical relevance for patients with melanoma. *Cancer* 91:2110-2121.
- [73] Starz H, Siedlecki K, Balda BR (2004) Sentinel lymphonodectomy and s-classification: a successful strategy for better prediction and improvement of outcome of melanoma. *Ann Surg Oncol* 11:162S-168S.
- [74] Scolyer RA, Li LX, McCarthy SW, Shaw HM, Stretch JR, Sharma R, Thompson JF (2004) Micromorphometric features of positive sentinel lymph nodes predict involvement of nonsentinel nodes in patients with melanoma. *Am J Clin Pathol* 122:532-539.
- [75] Dewar DJ, Newell B, Green MA, Topping AP, Powell BW, Cook MG (2004) The microanatomic location of metastatic melanoma in sentinel lymph nodes predicts nonsentinel lymph node involvement. *J Clin Oncol* 22:3345-3349.
- [76] Gershenwald JE, Andtbacka RH, Prieto VG, Johnson MM, Diwan AH, Lee JE, Mansfield PF, Cormier JN, Schacherer CW, Ross MI (2008) Microscopic tumor burden in sentinel lymph nodes predicts synchronous nonsentinel lymph node involvement in patients with melanoma. *J Clin Oncol* 26:4296-4303.

- [77] McDonald K, Page AJ, Jordan SW, Chu C, Hestley A, Delman KA, Murray DR, Carlson GW (2013) Analysis of regional recurrence after negative sentinel lymph node biopsy for head and neck melanoma. *Head Neck* 35:667-671.
- [78] Hoetzenecker W, Guenova E, Böttinger TU, Häfner HM, Breuninger H (2011) Mapping of specific sentinel node locations for skin cancer of the head. *Eur J Dermatol* 21:354-358.
- [79] O'Brien CJ, Uren RF, Thompson JF, Howman-Giles RB, Petersen-Schaefer K, Shaw HM, Quinn MJ, McCarthy WH (1995) Prediction of potential metastatic sites in cutaneous head and neck melanoma using lymphoscintigraphy. *Am J Surg* 170:461-466.
- [80] Shah JP, Kraus DH, Dubner S, Sarkar S (1991) Patterns of regional lymph node metastases from cutaneous melanomas of the head and neck. *Am J Surg* 162:320-323.
- [81] Willis AI, Ridge JA (2007) Discordant lymphatic drainage patterns revealed by serial lymphoscintigraphy in cutaneous head and neck malignancies. *Head Neck* 29:979-985.
- [82] Morton DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran A (1993) Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early-stage melanomas of the head and neck. *J Clin Oncol* 11:1751-1756.
- [83] de Rosa N, Lyman GH, Silbermins D, Valsecchi ME, Pruitt SK, Tyler DM, Lee WT (2011) Sentinel node biopsy for head and neck melanoma: a systematic review. *Otolaryngol Head Neck Surg* 145:375-382.
- [84] Erman AB, Collar RM, Griffith KA, Lowe L, Sabel MS, Bichakjian CK, Wong SL, McLean SA, Rees RS, Johnson TM, Bradford CR (2012) Sentinel lymph node biopsy is accurate and prognostic in head and neck melanoma. *Cancer* 118:1040-1047.
- [85] Kunte C, Geimer T, Baumert J, Konz B, Volkenandt M, Flaig M, Ruzicka T, Berking C, Schmid-Wendtner MH (2010) Prognostic factors associated with sentinel lymph node positivity and effect of sentinel status on survival: an analysis of 1049 patients with cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 20:330-337.
- [86] Mays MP, Martin RC, Burton A, Ginter B, Edwards MJ, Reintgen DS, Ross MI, Urist MM, Stromberg AJ, McMasters KM, Scoggins CR (2010) Should all patients with melanoma between 1 and 2 mm Breslow thickness undergo sentinel lymph node biopsy? *Cancer* 116:1535-1544.
- [87] McMasters KM, Wong SL, Edwards MJ, Ross MI, Chao C, Noyes RD, Viar V, Cerrito PB, Reintgen DS (2001) Factors that predict the presence of sentinel lymph node metastasis in patients with melanoma. *Surgery* 130:151-156.
- [88] Testori A, De Salvo GL, Montesco MC, Trifiro G, Mocellin S, Landi G, Macripo G, Carcoforo P, Ricotti G, Giudice G, Picciotto F, Donner D, Di Filippo F, Soteldo J,

- Casara D, Schiavon M, Vecchiato A, Pasquali S, Baldini F, Mazzarol G, Rossi CR (2009) Clinical considerations on sentinel node biopsy in melanoma from an Italian multicentric study on 1,313 patients (SOLISM-IMI). *Ann Surg Oncol* 16:2018-2027.
- [89] Valsecchi ME, Silbermins D, de Rosa N, Wong SL, Lyman GH (2011) Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 29:1479-1487.
- [90] Warycha MA, Zakrzewski J, Ni Q, Shapiro RL, Berman RS, Pavlick AC, Polsky D, Mazumdar M, Osman I (2009) Meta-analysis of sentinel lymph node positivity in thin melanoma (≤ 1 mm). *Cancer* 115:869-879.
- [91] Mitteldorf C, Bertsch HP, Jung K, Thoms KM, Schon MP, Tronnier M, Kretschmer L (2014) Sentinel node biopsy improves prognostic stratification in patients with thin (pT1) melanomas and an additional risk factor. *Ann Surg Oncol* 21:2252-2258.
- [92] Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ (1999) Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 230:453-463; discussion 463-465.
- [93] Stitzenberg KB, Thomas NE, Beskow LM, Ollila DW (2006) Population-based analysis of lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy utilization for intermediate thickness melanoma. *J Surg Oncol* 93:100-107; discussion 107-108.
- [94] Uren RF (2004) Lymphatic drainage of the skin. *Ann Surg Oncol* 11:179S-185S.
- [95] Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN (1993) Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 2:303-308.
- [96] Alex JC, Krag DN (1996) The gamma-probe-guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. *Surg Oncol Clin N Am* 5:33-41.
- [97] Gershenwald JE, Tseng CH, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Bouvet M, Lee JJ, Ross MI (1998) Improved sentinel lymph node localization in patients with primary melanoma with the use of radiolabeled colloid. *Surgery* 124:203-210.
- [98] Ariyan S, Ariyan C, Farber LR, Fischer DS, Flynn SD, Truini C (2004) Reliability of identification of 655 sentinel lymph nodes in 263 consecutive patients with malignant melanoma. *J Am Coll Surg* 198:924-932.
- [99] Garbe C, Hauschild A, Volkenandt M, Schadendorf D, Stolz W, Reinhold U, Kortmann RD, Kettelhack C, Frerich B, Keilholz U, Dummer R, Günther S, Tilgen W, Schuler G, Mackensen A, Kaufmann R. Leitlinie "Malignes Melanom". In: Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie. 2005.

- [100] Starz H, Cochran AJ, Balda BR (2002) Die Sentinel-Lymphonodektomie aus histopathologischer Sicht. *Akt Dermatol* 28:273-278.
- [101] Garbe C, Eigentler TK, Bauer J, Blödorn-Schlicht N, Fend F, Hantschke M, Kurschat P, Kutzner H, Metze D, Pressler H, Reusch M, Röcken M, Stadler R, Tronnier M, Yazdi A, Metzler G (2011) Histopathological diagnostics of malignant melanoma in accordance with the recent AJCC classification 2009: Review of the literature and recommendations for general practice. *J Dtsch Dermatol Ges* 9:690-699.
- [102] Younan R, Bougrine A, Watters K, Mahboubi A, Bouchereau-Eyegue M, Loutfi A, Tremblay F, Bouffard D, Belisle A, Leblanc G, Nassif E, Martin G, Patocskai E, Alenezi M, Meterissian S (2010) Validation study of the s classification for melanoma patients with positive sentinel nodes: the Montreal experience. *Ann Surg Oncol* 17:1414-1421.
- [103] van Akkooi AC, Voit CA, Verhoef C, Eggermont AM (2010) New developments in sentinel node staging in melanoma: controversies and alternatives. *Curr Opin Oncol* 22:169-177.
- [104] Sabel MS, Griffith K, Sondak VK, Lowe L, Schwartz JL, Cimmino VM, Chang AE, Rees RS, Bradford CR, Johnson TM (2005) Predictors of nonsentinel lymph node positivity in patients with a positive sentinel node for melanoma. *J Am Coll Surg* 201:37-47.
- [105] Ziegler A, Lange S, Bender R (2007) Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode. *Dtsch Med Wochenschr* 132 Suppl 1:e36-e38.
- [106] Greenland S, Pearl J, Robins JM (1999) Causal diagrams for epidemiologic research. *Epidemiology* 10:37-48.
- [107] Schipf S, Knüppel S, Hardt J, Stang A (2011) Directed acyclic graphs (DAGs) - Die Anwendung kausaler Graphen in der Epidemiologie. *Gesundheitswesen* 73:888-892.
- [108] Ziegler A, Lange S, Bender R (2007) Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 132 Suppl 1:e42-e44.
- [109] Schoenfeld D (1982) Partial residuals for the proportional hazards regression model. *Biometrika* 69:239-241.
- [110] Agnese DM, Abdessalam SF, Burak WE, Jr., Magro CM, Pozderac RV, Walker MJ (2003) Cost-effectiveness of sentinel lymph node biopsy in thin melanomas. *Surgery* 134:542-547; discussion 547-548.
- [111] de Wilt JH, van Akkooi AC, Verhoef C, Eggermont AM (2008) Detection of melanoma micrometastases in sentinel nodes - the cons. *Surg Oncol* 17:175-181.

- [112] Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F, Schroer K, Heller R, Ross M, Lyman G, et al. (1994) The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 220:759-767.
- [113] Carlson GW, Murray DR, Lyles RH, Staley CA, Hestley A, Cohen C (2003) The amount of metastatic melanoma in a sentinel lymph node: does it have prognostic significance? *Ann Surg Oncol* 10:575-581.
- [114] McMasters KM, Wong SL, Edwards MJ, Chao C, Ross MI, Noyes RD, Viar V, Cerrito PB, Reintgen DS (2002) Frequency of nonsentinel lymph node metastasis in melanoma. *Ann Surg Oncol* 9:137-141.
- [115] Venna SS, Thummala S, Nosrati M, Leong SP, Miller JR, Sagebiel RW, Kashani-Sabet M (2013) Analysis of sentinel lymph node positivity in patients with thin primary melanoma. *J Am Acad Dermatol* 68:560-567.
- [116] White RL, Jr., Ayers GD, Stell VH, Ding S, Gershenwald JE, Salo JC, Pockaj BA, Essner R, Faries M, Charney KJ, Avisar E, Hauschild A, Egberts F, Averbook BJ, Garberoglio CA, Vetto JT, Ross MI, Chu D, Trisal V, Hoekstra H, Whitman E, Wanebo HJ, Debonis D, Vezeridis M, Chevinsky A, Kashani-Sabet M, Shyr Y, Berry L, Zhao Z, Soong SJ, Leong SP (2011) Factors predictive of the status of sentinel lymph nodes in melanoma patients from a large multicenter database. *Ann Surg Oncol* 18:3593-3600.
- [117] Chao C, Martin RC, 2nd, Ross MI, Reintgen DS, Edwards MJ, Noyes RD, Hagendoorn LJ, Stromberg AJ, McMasters KM (2004) Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma. *Ann Surg Oncol* 11:259-264.
- [118] Callender GG, Egger ME, Burton AL, Scoggins CR, Ross MI, Stromberg AJ, Hagendoorn L, Martin RC, 2nd, McMasters KM (2011) Prognostic implications of anatomic location of primary cutaneous melanoma of 1 mm or thicker. *Am J Surg* 202:659-664; discussion 664-665.
- [119] Paek SC, Griffith KA, Johnson TM, Sondak VK, Wong SL, Chang AE, Cimmino VM, Lowe L, Bradford CR, Rees RS, Sabel MS (2007) The impact of factors beyond Breslow depth on predicting sentinel lymph node positivity in melanoma. *Cancer* 109:100-108.
- [120] Murali R, Cochran AJ, Cook MG, Hillman JD, Karim RZ, Moncrieff M, Starz H, Thompson JF, Scolyer RA (2009) Interobserver reproducibility of histologic parameters of melanoma deposits in sentinel lymph nodes: implications for management of patients with melanoma. *Cancer* 115:5026-5037.
- [121] Lee JH, Essner R, Torisu-Itakura H, Wanek L, Wang H, Morton DL (2004) Factors predictive of tumor-positive nonsentinel lymph nodes after tumor-positive sentinel lymph node dissection for melanoma. *J Clin Oncol* 22:3677-3684.

- [122] Francischetto T, Spector N, Neto Rezende JF, de Azevedo Antunes M, de Oliveira Romano S, Small IA, Gil Ferreira C (2010) Influence of sentinel lymph node tumor burden on survival in melanoma. *Ann Surg Oncol* 17:1152-1158.
- [123] Pearlman NW, McCarter MD, Frank M, Hurtubis C, Merkow RP, Franklin WA, Gonzalez R, Lewis K, Roaten JB, Robinson WA (2006) Size of sentinel node metastases predicts other nodal disease and survival in malignant melanoma. *Am J Surg* 192:878-881.
- [124] van der Ploeg AP, van Akkooi AC, Schmitz PI, Koljenovic S, Verhoef C, Eggermont AM (2010) EORTC Melanoma Group sentinel node protocol identifies high rate of submicrometastases according to Rotterdam Criteria. *Eur J Cancer* 46:2414-2421.
- [125] Scheri RP, Essner R, Turner RR, Ye X, Morton DL (2007) Isolated tumor cells in the sentinel node affect long-term prognosis of patients with melanoma. *Ann Surg Oncol* 14:2861-2866.
- [126] Murali R, Thompson JF, Shaw HM, Scolyer RA (2008) The prognostic significance of isolated immunohistochemically positive cells in sentinel lymph nodes of melanoma patients. *Am J Surg Pathol* 32:1106-1107; author reply 1107-1108.
- [127] Horn LC, Hentschel B, Galle D, Bilek K (2008) Extracapsular extension of pelvic lymph node metastases is of prognostic value in carcinoma of the cervix uteri. *Gynecol Oncol* 108:63-67.
- [128] Altinyollar H, Berberoglu U, Gulben K, Irkin F (2007) The correlation of extranodal invasion with other prognostic parameters in lymph node positive breast cancer. *J Surg Oncol* 95:567-571.
- [129] Prabhudesai A, Arif S, Finlayson CJ, Kumar D (2003) Impact of microscopic extranodal tumor deposits on the outcome of patients with rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 46:1531-1537.
- [130] Theunissen PH, Bollen EC, Koudstaal J, Thunnissen FB (1994) Intranodal and extranodal tumour growth in early metastasised non-small cell lung cancer: problems in histological diagnosis. *J Clin Pathol* 47:920-923.
- [131] Cook MG, Green MA, Anderson B, Eggermont AM, Ruiter DJ, Spatz A, Kissin MW, Powell BW (2003) The development of optimal pathological assessment of sentinel lymph nodes for melanoma. *J Pathol* 200:314-319.
- [132] Gietema HA, Vuylsteke RJ, de Jonge IA, van Leeuwen PA, Molenkamp BG, van der Sijp JR, Meijer S, van Diest PJ (2004) Sentinel lymph node investigation in melanoma: detailed analysis of the yield from step sectioning and immunohistochemistry. *J Clin Pathol* 57:618-620.

- [133] Abrahamsen HN, Hamilton-Dutoit SJ, Larsen J, Steiniche T (2004) Sentinel lymph nodes in malignant melanoma: extended histopathologic evaluation improves diagnostic precision. *Cancer* 100:1683-1691.
- [134] Spanknebel K, Coit DG, Bieligg SC, Gonen M, Rosai J, Klimstra DS (2005) Characterization of micrometastatic disease in melanoma sentinel lymph nodes by enhanced pathology: recommendations for standardizing pathologic analysis. *Am J Surg Pathol* 29:305-317.
- [135] Riber-Hansen R, Nyengaard JR, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T (2009) The nodal location of metastases in melanoma sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol* 33:1522-1528.
- [136] Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W, Cavaliere R, Mozzillo N, Rossi CR, MacKie RM, Nieweg O, Pace M, Kirov K (2000) Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience. *Ann Surg Oncol* 7:469-474.
- [137] Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ, Turner RR, Essner R, Takeuchi H, Wanek LA, Glass E, Foshag LJ, Hsueh EC, Bilchik AJ, Elashoff D, Elashoff R (2003) Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. *Ann Surg* 238:538-549; discussion 549-550.
- [138] Gershenwald JE, Colome MI, Lee JE, Mansfield PF, Tseng C, Lee JJ, Balch CM, Ross MI (1998) Patterns of recurrence following a negative sentinel lymph node biopsy in 243 patients with stage I or II melanoma. *J Clin Oncol* 16:2253-2260.
- [139] Scoggins CR, Martin RC, Ross MI, Edwards MJ, Reintgen DS, Urist MM, Gershenwald JE, Sussman JJ, Dirk Noyes R, Goydos JS, Beitsch PD, Ariyan S, Stromberg AJ, Hagendoorn LJ, McMasters KM (2010) Factors associated with false-negative sentinel lymph node biopsy in melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 17:709-717.
- [140] Iwata H, Kamiya H, Kitajima Y (2011) False-negative sentinel lymph node biopsy resulting from obstruction of lymphatic basin by nodal metastasis: a case report of malignant melanoma. *J Dermatol* 38:1121-1124.
- [141] Leong SP, Morita ET, Sudmeyer M, Chang J, Shen D, Achtem TA, Allen RE, Jr., Kashani-Sabet M (2005) Heterogeneous patterns of lymphatic drainage to sentinel lymph nodes by primary melanoma from different anatomic sites. *Clin Nucl Med* 30:150-158.

Literaturverzeichnis

- [142] Sachs L: Angewandte Statistik. 7. Auflage, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1992, ff 310.
- [143] Hilgers R-D, Bauer P, Schreiber V: Biomathematik für Mediziner. 1. Auflage, Mönch-Haase, Köln, 1998, S. 197-200.
- [144] Reeves ME, Delgado R, Busam KJ, Brady MS, Coit DG (2003) Prediction of nonsentinel lymph node status in melanoma. *Ann Surg Oncol* 10:27-31.
- [145] Cadili A, Dabbs K, Scolyer RA, Brown PT, Thompson JF (2010) Re-evaluation of a scoring system to predict nonsentinel-node metastasis and prognosis in melanoma patients. *J Am Coll Surg* 211:522-525.
- [146] Callender GG, Gershenwald JE, Egger ME, Scoggins CR, Martin RC, 2nd, Schacherer CW, Edwards MJ, Urist MM, Ross MI, Stromberg AJ, McMasters KM (2012) A novel and accurate computer model of melanoma prognosis for patients staged by sentinel lymph node biopsy: comparison with the american joint committee on cancer model. *J Am Coll Surg* 214:608-617.
- [147] Soong SJ, Ding S, Coit D, Balch CM, Gershenwald JE, Thompson JF, Gimotty P (2010) Predicting survival outcome of localized melanoma: an electronic prediction tool based on the AJCC Melanoma Database. *Ann Surg Oncol* 17:2006-2014.
- [148] Wiener M, Acland KM, Shaw HM, Soong SJ, Lin HY, Chen DT, Scolyer RA, Winstanley JB, Thompson JF (2010) Sentinel node positive melanoma patients: prediction and prognostic significance of nonsentinel node metastases and development of a survival tree model. *Ann Surg Oncol* 17:1995-2005.
- [149] Gimotty PA, Guerry D, Ming ME, Elenitsas R, Xu X, Czerniecki B, Spitz F, Schuchter L, Elder D (2004) Thin primary cutaneous malignant melanoma: a prognostic tree for 10-year metastasis is more accurate than American Joint Committee on Cancer staging. *J Clin Oncol* 22:3668-3676.

8. Thesen

- 1) Patienten mit Sentinel-Lymphknoten-(SLK)-Mikrometastasen waren häufiger Männer und wiesen dickere, am Stamm lokalisierte Primärtumoren mit höherem Clark-Level, Ulzerationen und Regression auf.
- 2) Der häufigste histologische Subtyp der Patienten mit SLK-Mikrometastasen war das noduläre Melanom, der von SLK-negativen Patienten das superfiziell spreitende Melanom.
- 3) Eine Prädiktion des lokalrezidivfreien- (LRFS) und des krankheitsfreien Überlebens (DFS) von Melanompatienten anhand histopathologischer Parameter des SLK ist prinzipiell möglich.
- 4) Der SLK-Status (Melanombefall ja/nein), die S-Klasse III, die Rotterdam-Klasse III und die extrakapsuläre Ausbreitung haben einen starken unabhängigen, negativ-prognostischen Einfluss auf das LRFS sowie das DFS.
- 5) Der intrakapsuläre Befall ist ein unabhängiger, negativ-prognostischer Marker primär des LRFS, sekundär des DFS.
- 6) Die 500µm-Inkrementen der Tumoreindringtiefe (TPD) und der Korngröße sind hochpräzise Effektschätzer, welche bei der Identifikation von Patienten mit guter Prognose einen entscheidenden Beitrag leisten könnten.
- 7) Die Dewar-Klassifikation ist aufgrund Ihrer vielen indistinkten Klassen für die Routinebegutachtung des SLK ungeeignet.
- 8) Die PosNCutRate $\left(\frac{\text{Anzahl tumorbefallener histologischer Schnitte}}{\text{Anzahl histologischer Schnitte gesamt}} \right)$ und das postulierte 3D-Modell der Tumorarchitektur (s.u.) verbesserten die Prognoseprädiktion nicht.

$$\left(\frac{\pi}{4} * \left(\frac{\text{maximaler Durchmesser X des größten Kornes}}{\text{maximaler Durchmesser Y (90° zu X)}} \right) * (\text{PosNCutRate}) \right)$$
- 9) Die Gewichtung der prognostischen Parameter untereinander mittels C-Statistik ergab keine verwertbaren Resultate.
- 10) Die Verwendung von kausalen Graphen (DAGs) kann dabei helfen, die Wechselwirkungen der einzelnen Parameter mathematisch besser abzubilden und mögliche Störgrößen zu identifizieren.
- 11) Die Adjustierung für 5 Störgrößen im multivariablen Cox-Modell resultierte für alle getesteten Parameter in einer Reduzierung der Schätzwerte und damit einer Verhinderung der Überschätzung des betrachteten Risikos.

- 12) Die statistischen Resultate für Patienten mit niedrigen Stadien sind aufgrund der deutliche geringeren Patientenzahl und zugleich der stark eingeschränkten Ereignisdichte deutlich kritischer zu hinterfragen als für Patienten in hohen Stadien.
- 13) Kein einzelner der getesteten histopathologischen Parameter bildet die Prognose der Patienten vollständig ab. Die Kombination statistisch validierter Parameter des SLK zusammen mit klinischen- (Alter, Geschlecht) und Primärtumordaten (Breslow-Index, Ulzeration, Mitosen) kann bei der Definition eines künftigen Untersuchungsalgorithmus, der sowohl zeitraumorientiert als auch diagnostisch treffsicher sein soll, helfen.

Anhang

Curriculum vitae

Name: Daniel Bethmann
Adresse: Am Sophienhafen 6, 06108 Halle (Saale)
Geburtsdatum/-ort: 26.02.1983 in Halle (Saale)
Familienstand: verheiratet, 1 Tochter (Ellen)
Telefon: 0345/68687919 und 0176/76161887
Email: daniel.bethmann@gmx.de

Schulische Bildung

1989-1993 Besuch der Grundschule, Halle (Saale)
1993-2002 Besuch des Georg Cantor-Gymnasiums, Halle (Saale); 1999-2000 einjähriger
Auslandsaufenthalt an der Palm Bay High School, Florida, USA
06/2002 Abitur mit Note 1,3

Zivildienst

2002-2003 Universitätsklinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin
(Operationssaal) in Halle/Saale

Berufliche Bildung

2003-2010 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
19.09.2005: Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note: 3,0
08.12.2010: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Note: 2,5
27.12.2010: Approbation als Arzt
2011-2013 Assistenzarzt am Carl-von-Basedow-Klinikum Merseburg, Klinik für Notfall-
und Intensivmedizin sowie Klinik für Hämatologie und Onkologie
2013-2014 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Julius-Bernstein-Institut für Physiologie der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
ab 04/2014 Assistenzarzt am Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Halle (Saale)

Anhang

Dissertation

„Morphologische Details an Sentinel-Lymphknotenbiopsien von Patienten mit malignem Melanom und deren Prognoserelevanz“

Doktorvater: Prof. Dr. Wolfgang Ch. Marsch

Betreuer: Dr. Eckhard Fiedler

an der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie Halle (Saale)

Halle, den 03.03.2015

Daniel Bethmann

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis wurden beachtet (Amtsblatt der MLU Nr. 5, 02.07.09).

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, den 03.03.2015

Daniel Bethmann

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine früheren Promotionsversuche mit dieser oder einer anderen Dissertation unternommen habe. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, den 03.03.2015

Daniel Bethmann

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Wolfgang Christian Marsch, Direktor der Universitäts- und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, danke ich für die Überlassung des Themas, die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik erstellen zu können und für viele wertvolle Kommentare und kritischen Dialoge.

Meinem Betreuer Herrn Dr. Eckhard Fiedler danke ich für seine immerwährende Erreichbarkeit (auch zu manch später Stunde), die schnelle und unkomplizierte Lösung unzähliger kleiner wie großer Probleme und Fragen, für die wertvollen Hinweise zur Interpretation der Ergebnisse und die vielen anregenden Diskussionen.

Ein besonderer Dank gilt den Herren Prof. Dr. Andreas Stang und Dr. Pietro Trocchi am Institut für Klinische Epidemiologie, welche mich mit unglaublicher Gelassenheit und erheblichem Einsatz durch das anspruchsvolle Feld der Statistik geleitet haben.

Den Mitarbeitern der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Universität Halle-Wittenberg, insbesondere Carmen Kupka in der Dermato-Onkologischen Ambulanz sowie Christel Lindhof und Anja Lippert im immunhistochemischen Labor der Hautklinik möchte ich für die freundliche Unterstützung und Anteilnahme am Fortschritt der Doktorarbeit danken.

Meiner lieben Ehefrau Ivonne und meiner liebevollen Familie danke ich für die zahlreichen kritischen Dialoge, den stetigen moralischen Antrieb und die Unterstützung für viele Abende in der Bibliothek. Meiner Mutter danke ich dafür, dass Sie mir dieses Studium ermöglicht hat und meinen Weg voller Spannung und Stolz verfolgt und mich auf allen Pfaden immerwährend unterstützt hat!