

Aus der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Die achte Version der TNM Klassifikation und ihr Einfluss auf die  
Prognosevalidität für Kopf-Hals Tumoren ohne identifizierbaren  
Ursprung**

**The eighth version of the TNM Classification and its influence on  
the validity of the prognosis for Head and Neck Cancer of Unknown  
Primary**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Robert Boeker

Datum der Promotion: 25. November 2022

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>2. Kurzzusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>3. Abstract</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Einleitung</b> .....	<b>7</b>
4.1 Ätiologie, Klassifikation und Epidemiologie.....	7
4.2 Diagnostik und Therapie.....	8
4.3 Prävention/Prognose.....	9
4.4 Forschungsstand.....	10
<b>5. Material und Methoden</b> .....	<b>11</b>
5.1 Einschlusskriterien.....	11
5.2 Diagnostik und Therapieplanung.....	11
5.3 Immunhistochemie.....	14
5.4 Statistische Analyse.....	15
<b>6. Ergebnisse</b> .....	<b>16</b>
6.1 Patient*innen Charakteristika und Therapie.....	16
6.2 HNCUP.....	17
6.3 Langzeitüberleben.....	19
6.4 Einflussgrößen auf das Gesamtüberleben.....	22
6.5 Raucher*innen.....	25
<b>7. Diskussion</b> .....	<b>27</b>
7.1 Studienergebnisse im Kontext anderer Studien.....	27
7.2 Rauchen und seine Bedeutung für HNCUP.....	30
7.3 Weiterführende Fragestellungen bezüglich Diagnostik und Therapie.....	31
7.4 Limitationen, klinische Anwendung und Anteil.....	32

7.5 Zusammenfassung .....	32
<b>8. Referenzen.....</b>	<b>33</b>
<b>9. Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>37</b>
<b>10. Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation .....</b>	<b>39</b>
<b>11. Auszug aus der Journal Summary Liste (ISI Web of Knowledge).....</b>	<b>40</b>
<b>12. Publikation</b> Boeker R, Stromberger C, Heiland M, Beck-Broichsitter B, Hofmann VM, Neumann K, Ochsenreither S, Olze H, Dommerich S, Piwonski I, Coordes A. <i>Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer</i> , The Laryngoscope, 2021, doi: 10.1002/lary.29499, Volume 131, Issue 9, p.E2534-E2542.....	<b>41</b>
<b>13. Lebenslauf.....</b>	<b>50</b>
<b>14. Komplette Publikationsliste .....</b>	<b>52</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>52</b>

## 1. Abkürzungsverzeichnis

HNCUP	Head and neck cancer of unknown primary
HPV	Humane Papillomviren
HNC	Head and neck cancer
EBV	Ebstein-Barr-Virus
OPC	Oropharyngeal carcinoma
ENE	Extranodal extension
FDG-PET-CT	Fluordesoxyglucose-Positonen-Emissions- Tomographie-Computertomographie
TORS	Transoral robotic surgery
TLM	Tissue laser microsurgery
(S/MR) ND	(Selective/ modified radical) neck dissection
RT	Radiotherapie
RCT	Radiochemotherapie
IMRT	Intensitätsmodulierte Radiotherapie
VMAT	Volumenmodulierte Arc Therapie
ANOVA	Analysis of variance
FET	Fisher's exact test
OS	Overall survival
HR	Hazard ratio
CI	Confidence interval

## 2. Kurzzusammenfassung

In der achten Version der TNM Klassifikation maligner Tumoren wurde erstmals ein Kapitel für Kopf-Hals-Tumoren mit unbekanntem Ursprung (*HNCUP*) eingeführt. Dieses Stadien-System basiert auf den Erkenntnissen größerer Studien zu Oropharynx-Karzinomen und wurde nie im Rahmen einer klinischen Studie hinsichtlich seiner Validität für *HNCUP* untersucht. Vor dem Hintergrund sich ändernder Zusammensetzungen der Patient\*innenkollektive (e.g. höhere HPV-Inzidenzen) und für potenzielle Anpassungen im Therapieregime einzelner UICC-Stadien ist eine solche Überprüfung jedoch wichtig, was Ziel dieser Studie war.

Im Rahmen unserer Studie wurden 97 Patient\*innen, welche zwischen 2009 und 2018 an der Charité bezüglich eines *HNCUP* behandelt wurden, retrospektiv analysiert und die Veränderungen in den Überlebenskurven der einzelnen UICC-Stadien von TNM 7 zu TNM 8 mittels der Kaplan-Meier Methode dargestellt. Bei allen Patient\*innen wurde im Rahmen der Studie der p16- und EBV-Status bestimmt.

Ca. 73 % der Patient\*innen waren männlich und 27 % weiblich, das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose betrug 64,6 Jahre. 49,5 % waren zum Diagnosezeitpunkt aktive Raucher\*innen, eine Rauchhistorie (ehemalige oder aktive Rauchende) wiesen 58,8 % der Patient\*innen auf. Ein positiver p16-Status zeigte sich in 37,1 % der Fälle, ein positiver EBV-Status in 4,1 % der Fälle. Es fand sich eine Verschiebung der UICC Stadien von mittleren Stadien nach TNM 7 (78,4 % Stadium III/IVa) hin zu niedrigeren Stadien für p16 positive Patient\*innen nach TNM 8 (86,1 % Stadium I). P16 negative Patient\*innen wiesen nach TNM 8 häufig ein erhöhtes Stadium auf (56,1% Stadium IVb). Faktoren mit einem signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben in der univariaten Analyse stellten der p16-Status ( $P=0,002$ ), extranodales Wachstum ( $P=0,001$ ), der N-Status und das UICC-Stadium nach TNM 7 (jeweils  $P<0,001$ ) sowie das UICC-Stadium nach TNM 8 ( $P<0,001$ ) dar. Während nach TNM 7 zwischen den UICC-Stadien IVb und c kein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben festzustellen war, zeigten die einzelnen Überlebenskurven nach TNM 8 zwischen allen Einzelstadien signifikante Unterschiede (IVb zu c,  $P=0,001$ ). Aktive Raucher\*innen hatten ein signifikant niedrigeres Erkrankungsalter ( $P=0,003$ ) und starben jünger als Nie- und ehemalige Raucher\*innen. Der EBV-Status konnte in unserer Studie nicht als prognosebestimmender Faktor bestätigt werden.

Durch die stärkeren Unterschiede im Gesamtüberleben zwischen den einzelnen Stadien ist die Validität der Prognose anhand des TNM Klassifikationssystems gestiegen. Die bislang nicht bestehenden Unterschiede in der Therapie p16-positiver und -negativer *HNCUP* Patient\*innen sollten in prospektiven Studien weiter eruiert werden.

Die prognostische Signifikanz hat sich von TNM 7 zu TNM 8 verbessert und das Klassifikationssystem kann im klinischen Alltag gut angewendet werden.

### **3. Abstract**

For the first time the eighth edition of the TNM Classification of malignant tumors contains a whole chapter about head and neck cancer of unknown primary (HNCUP). The proposed staging system is based on the results of studies researching oropharyngeal cancer and has never been verified regarding its validity for HNCUP. But in the context of changing patient collectives (e.g., due to higher HPV-incidences) and potential changes in therapy regimens for single UICC stages it is necessary to verify the classification's validity for HNCUP, which was the aim of the current study.

A total of 97 patients, who were treated for HNCUP at Charité hospital in the period of 2009 to 2018, were analyzed retrospectively. The changes between the overall survival (OS) of the single UICC stages according to TNM 7 and TNM 8 were shown using the Kaplan-Meier method. The patients' p16- and EBV-status was already known or was determined for this study.

About 73% of the patients were male, 27% were female, the average age at initial diagnosis was 64.6 years. 49.5% were current smokers when they were first diagnosed with HNCUP, 58.8% had a documented history of smoking, 37.1% were positive for p16, 4.1% were positive for EBV. According to TNM 7 patients were mainly at intermediate UICC stages (78.4% stage III/IVa). There was a change to lower UICC stages for p16-positive patients according to TNM 8 (86.1% stage I) and to higher stages for p16-negative patients (56.1% stage IVb).

In the univariate analysis factors with significant influence on OS were p16-Status ( $P=0.002$ ), extranodal extension ( $P=0.001$ ), nodal category and UICC stage according to TNM 7 (both  $P<0.001$ ) and UICC stage according to TNM 8 ( $P<0.001$ ). There was no significant difference between UICC stages IVb and IVc according to TNM 7 but according to TNM 8 significant differences between every single UICC stage could be found (IVb to IVc,  $P=0.001$ ). Current smokers were significantly younger at initial diagnosis ( $P=0.003$ ) and died younger than never or former smokers. This study was not able to show significant influence of EBV on the OS.

Due to the significant differences in the OS of the single UICC stages the validity of the prognosis for HNCUP has improved with TNM 8. Yet not existing differences in the therapy of p16-positive and -negative patients should be further discussed by prospective studies.

The prognostic significance has improved with TNM 8, and it is applicable for clinical practice.

## 4. Einleitung

### 4.1 Ätiologie, Klassifikation und Epidemiologie

Wird im Kopf-/Hals-Bereich eine Lymphknotenmetastase entdeckt, welche ohne erkennbaren Ursprung des Primärtumors entstanden ist, so wird die Ausschlussdiagnose *Head and neck cancer of unknown primary (HNCUP)* gestellt.

Bei einer Gesamtzahl von ungefähr 17500 in Deutschland im Jahr 2016 diagnostizierten Kopf-/Hals-Tumoren haben *HNCUP* mit ungefähr 1 bis 5 % nur einen geringen Anteil an der Gesamtheit aller Kopf-/Hals-Tumoren (1-5). Mit einem Anteil von 75 bis 90 % aller Fälle sind Plattenepithelkarzinome (PEKA) die häufigste Tumorentität in *HNCUP* (5-7).

Das humane Papillomvirus (e.g. HPV-16) stellt als persistierende Infektion einen deutlichen Risikofaktor für die Entwicklung eines Kopf-/Hals-Tumors (und somit auch *HNCUP*) dar und kann in Europa in circa 40 % der Kopf-/Hals-Tumoren (*HNC*) nachgewiesen werden (8, 9). In den Vereinigten Staaten von Amerika lässt sich eine latente orale Infektion mit HPV in ca. 6,9 % der Bevölkerung zwischen 14 und 69 Jahren feststellen. Dies hängt direkt mit Faktoren wie beispielsweise der Anzahl an Sexualpartner\*innen, Alter oder Geschlecht zusammen (10).

Weitere bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung von Karzinomen, wie Rauchen und starker Alkoholkonsum spielen ebenso eine wichtige Rolle in der Genese von *HNCs*. Eine Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus (EBV) erhöht vor allem in der Entwicklung von Nasopharynx-Karzinomen (*NPC*) das Risiko (11-13).

Gerade der Einfluss von HPV-Positivität auf die Prognose der Patient\*innen mit Oropharynx-Karzinom (*OPC*) ist in den letzten Jahren in den Fokus gerückt, da hier gezeigt werden konnte, dass diese Patient\*innen ein besseres Gesamtüberleben aufweisen bei gleicher Therapie (14).

In den TNM-Klassifikationssystemen wurde diesem Umstand bis einschließlich TNM 7 nicht Rechnung getragen, zudem existierte bis zur Revision des Klassifikationssystems im Jahr 2016 kein eigenes Kapitel für *HNCUP* (15).

Auf Grundlage einer 2603 Patient\*innen umfassenden retrospektiven Studie von *O'Sullivan et al.* wurde die Unterteilung der *OPC* in HPV-positive und -negative Karzinome vorgeschlagen und in der Folge durch das *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* und die *Union for International Cancer Control (UICC)* 2016 vorgenommen (16-18).

Die Größe des befallenen Lymphknotens, die Anzahl befallener Lymphknoten und das regionale Metastasierungsmuster mit ipsi-, kontra- oder bilateralen Lymphknotenmetastasen sind neben dem Vorhandensein einer extranodalen Ausbreitung (*ENE*) weitere Faktoren bei Patient\*innen mit p16-negativen *HNC* (18). Zusätzlich findet sich in der achten Edition der TNM Klassifikation der UICC zum ersten Mal eine eigenständige Klassifikation für *HNCUP*, welche – wie bei der *OPC*-Klassifikation – anhand des HPV/ p16- Status und EBV-Status eine getrennte Einteilung nach N- und UICC- Stadien vornimmt (19).

Dass eine p16-Assoziation auch für *HNCUP* einen Überlebensvorteil bedeutet, konnten unter anderem Cheraghlou *et al.* in einer 978 Patient\*innen umfassenden, retrospektiven Studie aufzeigen (20). Dieser Einfluss, wie auch ein längeres krankheitsfreies Überleben (*DFS*) konnte auch durch andere Studien bewiesen werden (21, 22). EBV, als das zweite wichtige Virus, welches zur Zuteilung zu UICC-Klassen benutzt wird, wurde bislang nur für *NPC* als begünstigender Faktor hinsichtlich des Überlebens in Studien beschrieben (23).

*NPCs* nehmen jedoch innerhalb der *HNC* eine Sonderrolle ein, da sie vor allem regional gehäuft in Südostasien und hier besonders in Südost China auftreten, weshalb von einem großen Einfluss von ethnisch bedingten genetischen Unterschieden auf die Entwicklung von *NPCs* ausgegangen werden kann (13, 24, 25).

Ähnliche Studien zu dem Einfluss von EBV auf das Überleben von *HNCUP* sind bislang nicht existent.

## **4.2 Diagnostik und Therapie**

Zur Suche nach einem Primärtumor bei diagnostiziertem *HNCUP* werden sowohl MRT und CT-Scans als auch weiterführend die Panendoskopie mit Biopsie-Entnahme und/oder Tonsillektomie und Abtragung des Zungengrunds und das FDG-PET-CT eingesetzt (26, 27). Fokussiert wird die Suche hierbei vor allem auf die Bereiche des Oropharynx, Hypopharynx und der Mundhöhle, da sich dort in über der Hälfte der Fälle der Primarius finden lässt (28). In einer Studie von Lee *et al.* stellten insbesondere die Tonsillae palatinae (Gaumenmandeln) mit 28.3 % und der Zungengrund mit 20.6 % häufige Primärlokalisationen dar (29).

Neben den herkömmlichen Verfahren werden auch immer wieder neue Ansätze in der möglichen Diagnostik von Primärtumoren ausgetestet. So erhöhen die *transoral robotic surgery (TORS)* ebenso wie die *transoral laser microsurgery (TLM)* die Genauigkeit der Probeentnahme im

Vergleich zur reinen starren Pharyngolaryngoskopie unter Allgemeinanästhesie. Hierbei konnten Detektionsraten von 71 % bis 90 % erzielt werden (30, 31).

Kann in den Staging-Untersuchungen kein Primärtumor gefunden werden, wird die Diagnose eines *HNCUP* gestellt. Aufgrund des unklaren Primarius stellt die Therapie eine besondere Herausforderung dar. Falls im Rahmen des gesamten diagnostischen Verfahrens kein Primärtumor gefunden werden kann, folgt in der Regel eine *neck dissection* als *selective (SND)* oder (*modified radical neck dissection (MRND)*). In Abhängigkeit der Lokalisation der Lymphknotenmetastase(n) oder bei Infiltration von umliegenden Strukturen wird eine einseitige oder beidseitige Strahlentherapie (RT) oder Radiochemotherapie (RCT, e.g. bei *ENE/R1* Resektion) durchgeführt. Dieses, auch in der Therapie der in der durch uns durchgeführten Studie eingeschlossenen Patient\*innen angewandte Schema, orientiert sich an den Empfehlungen des *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)* (32).

Ob eine selektive oder radikalere *neck dissection* durchgeführt wird, hängt ebenfalls von der sich im Einzelfall darstellenden Tumorausdehnung ab. So konnten Schiff *et al.* für die Behandlung von Patient\*innen mit einem PEKA der Zunge und Lymphknotenmetastasen zeigen, dass (*M*)*RND* eine bessere Prognose hinsichtlich von Lymphknotenrezidiven – insbesondere in höheren N-Stadien – haben (33). Die Nachsorge ohne adjuvante RT oder RCT wird lediglich bei *HNCUP* in pN1-Stadien ohne kapselüberschreitendes Wachstum – unabhängig von der p16-Assoziation der Metastase – erwogen (32). In den konkreten Therapieschemata der RT/RCT orientiert man sich an den Therapieempfehlungen des *OPC*. Die RT soll als intensitätsmodulierte RT (IMRT) oder volumenmodulierte Arc Therapie (VMAT) durchgeführt werden und wird in der Regel bei postoperativen Risikofaktoren (e.g. *ENE*, R1 Situation) von einer Chemotherapie begleitet (32, 34). Verschiedene Chemotherapeutika kommen zum Einsatz, wobei ein platinhaltiges Regime jedoch den Standard darstellt (35).

### **4.3 Prävention/Prognose**

Zur Prävention von *HNCUP* sollten soweit möglich die oben genannten Risikofaktoren wie das Rauchen oder eine HPV-Infektion vermieden werden. So ist beispielsweise eine Änderung in der Zusammensetzung des Patient\*innen-Kollektivs zu erkennen, bei dem eine Historie von Oralsex zu einem gesteigerten Risiko einer oralen HPV-Infektion zu führen scheint (4, 36). Da wie beim Gebärmutterhalskrebs die HPV-Subtypen 16 und 18 auch die häufigsten beim HPV-positiven

*HNCUP* detektierten Subtypen darstellen, trägt die in Deutschland durch die STIKO empfohlene HPV-Impfung für Kinder ab dem 11. Lebensjahr, welche speziell diese Subtypen abdeckt, wahrscheinlich zur Risikoreduktion bei (9).

Die Prognose der Patient\*innen mit *HNCUP* hängt ebenso stark davon ab, ob und wie viel die Patient\*innen rauchen, was zu einem direkt erhöhten Risiko für Tumorprogress oder Tod führt (37, 38). Das Alter bei Diagnose und das N-Stadium konnten ebenfalls als prognoseentscheidend gezeigt werden (39).

#### **4.4 Forschungsstand**

Bis zum Erscheinen des Artikels von Boeker *et al.* hat es keine Studie gegeben, die für *HNCUP* die prognostische Relevanz der N- und UICC-Stadien nach der neuen, achten Version der *TNM Classification of Malignant Tumors* untersucht hat. Auch die Unterschiede zur siebten Version wurden bislang nicht untersucht.

Ziel der im Rahmen meiner Dissertation angefertigten Studie war es deshalb, die Anwendbarkeit der achten Version der *TNM Classification of Malignant Tumors* im Vergleich zur siebten Version zu untersuchen. Darüber hinaus wurde die Bedeutung von sowohl HPV/p16 als auch EBV für das Überleben und die Prognose von Patient\*innen mit *HNCUP* herausgearbeitet.

Da eine Verbesserung der prognostischen Aussagekraft der achten Version der *TNM Classification of Malignant Tumors* bei *HNCUP* als Grundlage für prospektive Studien zur Reduktion oder Intensivierung der Therapie ähnlich den *OPC* dienen könnte, ist eine Überprüfung des neuen Klassifikationssystems von großer Bedeutung gewesen.

Im Rahmen meiner Dissertation setzte ich mich zusätzlich mit unterschiedlichen, durch die aktuelle Literatur beschriebenen diagnostischen und therapeutischen Ansätzen auseinander und untersuchte, wie diese möglicherweise durch unsere Studienergebnisse beeinflusst werden könnten.

## **5. Material und Methoden**

### **5.1 Einschlusskriterien**

Eingeschlossen wurden Patient\*innen, welche mit neu diagnostiziertem *HNCUP* an der Charité behandelt worden sind. Der Zeitraum, in welchem die Patient\*innen an der Charité diagnostiziert wurden, lag zwischen 2009 und 2018 und beinhaltete 110 Patient\*innen. Aufgrund eines unbekanntem p16 und/oder EBV-Status wurden sieben und aufgrund eines Plattenepithelkarzinoms im Kopf-/Halsbereichs in ihrer medizinischen Vorgeschichte sechs Personen aus der Studienpopulation ausgeschlossen. Somit beschränkte sich die Analyse auf 97 Patient\*innen, deren Diagnosen durch das pathologische Institut der Charité histologisch bestätigt wurden.

Die Studie wurde durch die lokale Ethikkommission geprüft und genehmigt (Nr. EA2/005/18).

### **5.2 Diagnostik und Therapieplanung**

Wie in dem Artikel „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* beschrieben, umfasste die routinemäßige Diagnostik und Therapieplanung den Charité Standard nach interdisziplinärer Tumorboardempfehlung mit mehreren Stufen (40). Im Rahmen der Studie wurden die Daten hierüber aus den elektronischen Patient\*innenakten und Dokumentationssystemen entnommen. Im Folgenden ist der Ablauf dargestellt, wie er dem Standardvorgehen an der Charité entspricht und sich aus den Patient\*innenakten darstellte:

Die entnommenen Daten beinhalteten die Erhebung und Analyse der medizinischen Vorgeschichte, eine körperliche Untersuchung sowie eine umfassende Bildgebung. Ebenso wurden CT oder MRT-Aufnahmen der Kopf-/Hals-Region und CT-Scans des Thorax und Abdomens ausgewertet. Nur 53 Patient\*innen unserer Studienpopulation erhielten ein FDG-PET-CT zur Primärtumorsuche.

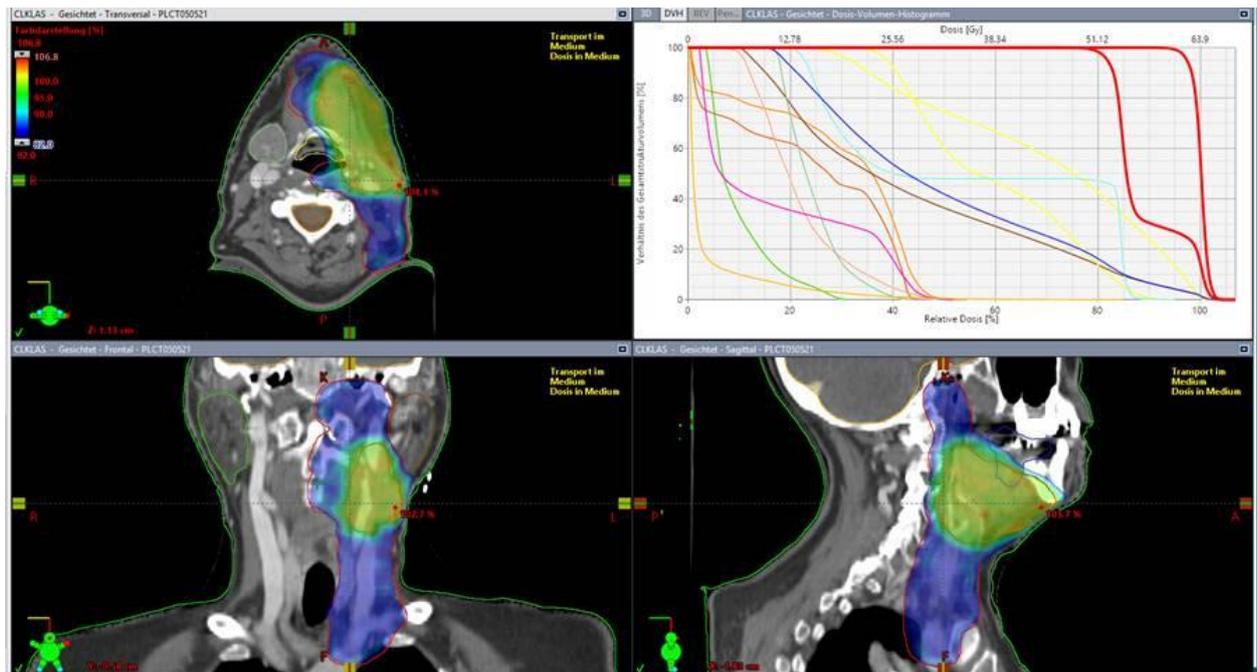
Ebenfalls zur Primarius-Suche erfolgte standardmäßig eine Panendoskopie. Im Rahmen der Panendoskopie erfolgten Biopsien aus dem Nasopharynx und dem Zungengrund sowie eine bilaterale Tonsillektomie. Zur histologischen Aufarbeitung wurde der verdächtige zervikale Lymphknoten entfernt oder biopsiert.

Sobald die Ausschlussdiagnose *HNCUP* gestellt werden konnte, wurde in der interdisziplinären Tumorkonferenz (bestehend aus Kopf-/Hals-Chirurg\*innen, Radioonkolog\*innen, Patholog\*innen, Onkolog\*innen und Radiolog\*innen) jede\*r Patient\*in vorgestellt und eine auf den UICC-Stadien und dem medizinischen Zustand fußende, evidenzbasierte Therapieempfehlung abgegeben. Diese Therapieempfehlungen orientierten sich an den Leitlinien des *NCCN* (32).

Die Säulen der Therapie von *HNCUP* stellten die *neck dissection* und eine adjuvante Radio- oder Radiochemotherapie dar. Initial wurde bei operablen *HNCUP* eine *neck dissection* durchgeführt, welche je nach Eindringtiefe und Infiltration anderer Strukturen durch die Lymphknotenmetastase(n) als unilateral oder bilateral und modifiziert radikal oder radikal durchgeführt wurde. Konnte keine Operation durchgeführt werden, erfolgte eine definitive Radio(chemo)therapie.

Die perkutanen Strahlentherapien wurden mittels IMRT oder als VMAT mit einer Photonenenergie von 6MV durchgeführt. VMAT erfolgte typischerweise mit 2 Arcs (Abbildung 1).

Im Falle einer adjuvanten Strahlentherapie wurde die Gesamtdosis je nach Risiko (mit/ohne *ENE* und/oder R1) dosiert. Bei vorhandenen Risikofaktoren (e.g. *ENE*, R1-Resektion, knapper Resektionsabstand) wurde der Hochrisikobereich in der Region der entfernten Lymphknotenmetastasen mit 64-66 Gy und die angrenzenden elektiven zervikalen Lymphabflusswege mit 50-54 Gy bestrahlt (Abbildung 1). Bei Fehlen von postoperativen Risikofaktoren erfolgte die Bestrahlung mit einer etwas geringeren Gesamtdosis von 56 Gy im Bereich der initial befallenen Lymphknotenregionen und mit 50 Gy im Bereich der elektiven Regionen.



**Abbildung 1: Beispiel für einen VMAT-Bestrahlungsplan bei linksseitigem HNCUP mit ENE nach neck dissection:** Linker Hals mit 5x/Woche 1,8 Gy (elektive Lymphabflusswege, Gesamtdosis 54 Gy) und simultan integrierter Boost (SIB) mit 2.13 Gy pro Fraktion auf die Hochrisiko-Region (Lymphknotenmetastasen mit ENE im Level Ib links, Gesamtdosis 63,9 Gy) (Zur Verfügung gestellt durch PD Dr. med. C. Stromberger)

Die RT wurde um eine simultane Chemotherapie ergänzt, wenn ENE, R1 oder ein Resektionsrandabstand von <5 mm vorlag. Das bevorzugte und auch durch die NCCN Leitlinien präferierte Chemotherapeutikum war Cisplatin (5x20mg/m<sup>2</sup>) mit oder ohne 5-Fluoruracil (5FU, 5x600mg(m<sup>2</sup> c.i.) (32). In Einzelfällen kamen Mitomycin C (1x10mg/m<sup>2</sup>) mit oder ohne 5FU oder Cetuximab in der ersten und fünften Woche der RCT zum Einsatz.

In fortgeschrittenen N- und UICC-Stadien wurde eine definitive RT oder simultane RCT erwogen. Hierbei wurden die makroskopischen Lymphknotenmetastase(n) mit einer Gesamtdosis von 70-72 Gy bestrahlt sowie die angrenzenden Hochrisikobereiche mit 60 Gy und der elektive Bereich der zervikalen Lymphabflusswege mit 50 Gy.

Patient\*innen mit Fernmetastasen und/oder solchen mit eingeschränktem Allgemeinzustand wurde eine palliative Systemtherapie mit e.g. Cetuximab, Nivolumab oder dem EXTREME-Schema (Cetuximab + Platinum (Cisplatin oder Carboplatin) + 5Fluorouracil) unterstützt durch eine *best supportive care*, angeboten.

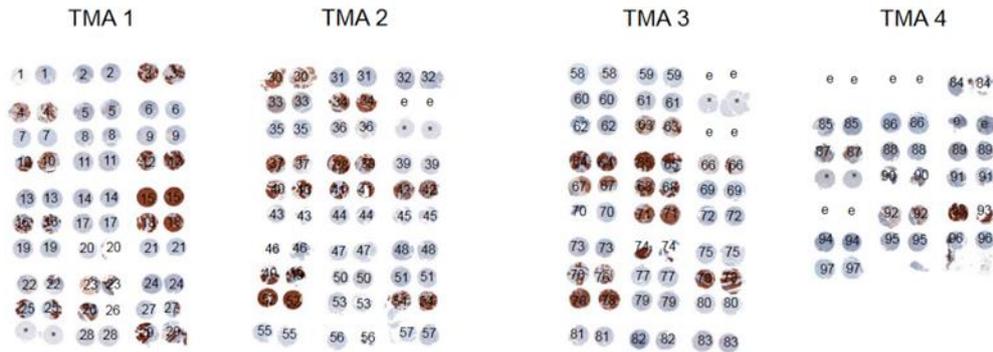
Alle Daten zur Auswertung der Studie sowie die Re-Klassifikation nach UICC-Stadien von der siebten auf die achte Version der TNM Klassifikation habe ich eigenständig im Rahmen dieser Doktorarbeit recherchiert, aus den Patient\*innenakten extrahiert und analysiert.

### **5.3 Immunhistochemie**

Die Immunhistochemie erfolgte entsprechend den Angaben in dem Artikel „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* (40).

Die immunhistochemische Färbung wurde an *tissue microarrays* durchgeführt. Hierfür wurden repräsentative Tumorbereiche auf den Hämatoxylin- und Eosin-gefärbten Plattenepithelkarzinom-Proben aller eingeschlossenen Patient\*innen markiert. Anschließend wurden zwei Stenzen von 1,5 mm Durchmesser aus unterschiedlichen Bereichen des Tumors herausgestanzt und in einem neuen Paraffin-Block als sogenannter *tissue microarrays* (Beecher Instruments, Woodland, CA) eingebettet. Zur Vorbereitung der immunhistochemischen Färbung wurden die Objektträger in Xylol deparaffiniert, in abnehmenden Alkoholreihen rehydriert und anschließend für fünf Minuten in einem Druckkocher in Citrat-Puffer-Lösung (pH=6) gekocht.

Die immunhistochemische Färbung wurde mit einem BenchMark ULTRA autostainer (Ventana, Tucson, Arizona, USA) und dem monoklonalen Kaninchen Antikörper p16INKA4 (CINtec Histology Kit; Ventana Medical Systems, Inc.1910E, Innovation Park Drive Tucson, Arizona 85755) entsprechend den Herstelleranweisungen durchgeführt. P16 wurde als Stellvertretermarker genutzt, um eine HPV-Verbindung nachzuweisen (41). Eine p16-Überexpression wurde definiert als mittlere bis starke Intensität (2+/3+) der Kernfärbung mit einer Verteilung von  $\geq 75$  % (der Tumorzellen, Abbildung 2).



**Abbildung 2: Tissue micro arrays 1-4 gefärbt mit p16 Immunhistochemie.** Patient\*innenproben sind auf zwei benachbarten Orten platziert. Die Proben sind mit 1 bis 97 beschriftet. Leere Stellen und Lebergewebe wurden zur Orientierung benutzt. Leere Stellen sind mit „e“ gekennzeichnet und Lebergewebe mit „\*“. (Abbildung modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021, supplemental figure) (40).

Die EBV in situ Hybridisation wurde mit einem Leica BOND MAX stainer (Leica Biosystems, Illinois, USA) und dem Fluorescein-konjugierten Oligonukleotid (EBER Probe ASR; 1700 Leider Lane, Buffalo Grove, Illinois 60089 USA) entsprechend den Hersteller Anweisungen durchgeführt.

## 5.4 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte analog zu dem Artikel „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* (40).

Entsprechend den Leitlinien für „*Statistical Analyses and Methods in the Published Literature*“ (SAMPL) wurden normalverteilte, kontinuierliche Variablen als Durchschnitt mit Standardabweichung und kategoriale Variablen als absolute Zahlen und in Prozentwerten dargestellt (42).

Die Subgruppen wurden untereinander im Hinblick auf ähnliche Zusammensetzung der Patient\*innencharakteristika getestet. Hierfür wurden ANOVA Analysen für den Vergleich von Durchschnittswerten der kontinuierlichen Variablen und *Fisher's exact test* (FET) oder der Pearson Chi-Quadrat-Test für die Untersuchung von kategorialen Variablen genutzt.

Primärer Endpunkt der Studie war das von der initialen Diagnose bis zum letzten *Follow up* oder Tod gemessene Gesamtüberleben, welches mittels der Kaplan-Meier Methode bestimmt und in einer Kaplan-Meier Kurve visualisiert wurde.

Im Rahmen der Studie wurden folgende klinisch-pathologische Variablen erhoben und ihr Einfluss auf das Gesamtüberleben mittels log-rank Test untersucht: Geschlecht (männlich vs. weiblich), Alter (<65 vs. ≥65 Jahre), Nikotinkonsum (Nieraucher\*innen vs. Nikotinhistorie), weitere Krebserkrankungen außer *HNCUP* (ja vs. nein), Extrakapsuläres Wachstum (ja vs. nein), N-Stadium nach TNM 7 (N1 vs. N2 vs. N3), UICC-Stadium nach TNM 7 (III/IVa vs. IVb vs. IVc), UICC-Stadium nach TNM 8 (I/II vs. III/IVa vs. IV vs. IVb vs. IVc).

Die Variablen, welche in der univariaten Analyse einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben ( $p < 0,05$ ) zeigten, wurden mittels *Cox multivariate proportional hazard model* mit Rückwärtselimination (*backward elimination*) weiterführend untersucht. Für alle statistischen Analysen wurde ein p-Wert von  $< 0,05$  als statistisch signifikant angesehen, alle p-Werte sind exploratorisch, eine Anpassung für multiple Testungen wurden nicht vorgenommen.

Für die statistische Auswertung wurde die IBM SPSS statistics-Software, Version 25.2 (SPSS, IBM Corp., Armonk, NY, USA) benutzt.

## 6. Ergebnisse

Die im Rahmen der der Publikation „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* generierten Ergebnisse werden im Folgenden dargestellt und teilweise vertieft abgebildet (40).

### 6.1 Patient\*innen Charakteristika und Therapie

97 Patient\*innen mit *HNCUP* wurden in die Analyse einbezogen, da sie im ausgewählten Zeitraum (2009-2018) diagnostiziert wurden, in ihrer Vorgeschichte keine Plattenepithelkarzinome des Kopf-/Hals-Bereichs vorlagen und der p16- und EBV-Status bestimmt werden konnte. Tabelle 1 zeigt die Patient\*innencharakteristika, wie sie auch in der oben genannten Publikation dargestellt wurden (40). Das durchschnittliche Alter bei Diagnose lag bei 64,6 Jahren und war bei Frauen (64,9 Jahre) und Männern (64,5 Jahre) nicht signifikant unterschiedlich. Eingeschlossen wurden 71 Männer (73,2 %) und 26 Frauen (26,8 %). Der Prozentsatz an aktiven Raucher\*innen zum Diagnosezeitpunkt betrug 49,5 % und unterschied sich ebenfalls nicht signifikant zwischen Frauen und Männern (weiblich 46,2 % vs. männlich 50,7 %; FET: p-Wert = 0,675). Unter den 42 Patient\*innen mit dokumentierten *pack years* (PY) betrug der durchschnittliche Wert 48,8 PY

(weiblich 44 PY vs. männlich 48 PY, ANOVA: p-Wert = 0,637). Eine in der Vorgeschichte diagnostizierte Krebserkrankung (e.g. Brust-, Prostata-, hepatozelluläres Karzinom, Melanom) wiesen 14,4 % der Patient\*innen auf (weiblich 23,1 % vs. männlich 11,3 %, FET: p-Wert = 0,191).

Von den 97 Patient\*innen hatten 86 adäquat dokumentierte Daten zur Therapie, hiervon erhielten 52 Patient\*innen eine *neck dissection* (17 % bilateral, 96 % modifiziert radikal, 4 % radikal). 19 Patient\*innen erhielten eine definitive RT oder RCT, fünf eine palliative Systemtherapie und vier eine *best supportive care*. Sechs Patient\*innen lehnten eine Therapie anfänglich ab oder brachen eine laufende Therapie ab.

## 6.2 HNCUP

Alle eingeschlossenen *HNCUP* Fälle sind histologisch bestätigte Plattenepithelkarzinome. Ein *ENE* war mit 64 Patient\*innen (66 %) überdurchschnittlich häufig diagnostiziert worden. Dokumentierte (Lokal-)Rezidive im Rahmen des jeweiligen *Follow-ups* zeigten sich bei 24 Patient\*innen (24,7 %). Es fand sich keine statistisch signifikante Häufung in Abhängigkeit von dem p16/EBV-Status (FET: p=0,469), jedoch wiesen Patient\*innen ohne *ENE* eine signifikante Häufung von Rezidiven auf (FET: p=0,046).

Die N- und UICC-Stadien wurden jeweils nach der siebten und der achten Edition der TNM Klassifikation bestimmt. In Tabelle 1 ist dargestellt, dass die meisten Patient\*innen nach TNM 7 in einem fortgeschritteneren Stadium eingeteilt wurden (77,3 % N2, 69,1 % UICC IVa), wohingegen nach TNM 8 p16-positive *HNCUP*-Patient\*innen herabgestuft und p16-negative *HNCUP*-Patient\*innen hochgestuft wurden. Die zehn Patient\*innen mit Fernmetastase(n) bei Diagnose verblieben nach der siebten Edition und nach der achten Edition in den höchstmöglichen UICC Stadien.

**Tabelle 1:** Charakteristika der Studienpatient\*innen und ihrer Tumoren nach p16/EBV Feststellbarkeit

Variable	Gesamt n = 97	P16+/EBV- n=36	P16-/EBV- n=57	P16-/EBV+ n=4	p-Wert* <sup>1</sup>	Test
Geschlecht – Anz. (%)					0.814	FET
Männlich	71 (73.2)	27 (75.0)	41 (71.9)	3 (75.0)		
Weiblich	26 (26.8)	9 (25.0)	16 (28.1)	1 (25.0)		
Alter bei <i>HNCUP</i> – Erstdiagnose, Jahre					0.146	ANOVA
Durchschnitt (StA)	64.6 (11.0)	63.0 (11.4)	66.3 (10.1)	54.5 (15.1)		
Tabakexposition – Anz. (%)					0.523	FET
NR	10 (10.3)	4 (11.1)	5 (8.8)	1 (25.0)		
ER	9 (9.3)	5 (13.9)	4 (7.0)	0 (0.0)		
AR	48 (49.5)	16 (44.4)	29 (50.9)	3 (75.0)		
Unbekannt	30 (30.9)	11 (30.6)	19 (33.3)	0 (0.0)		
Rauchhistorie – Anz. an <i>pack years</i>					0.149	ANOVA
Durchschnitt (StA)	48.8 (23.4)	40.3 (18.7)	51.1 (24.0)	73.3 (25.2)		
Krebserkrankung vor <i>HNCUP</i> Diagnose – Anz. (%)					0.582	FET
Ja	14 (14.4)	5 (13.9)	8 (14.0)	1 (25.0)		
Nein	83 (85.6)	31 (86.1)	49 (86.0)	3 (75.0)		
<b><i>HNCUP</i></b>						
<b>Charakteristika</b>						
Extranodale Ausbreitung – Anz. (%)					0.359	FET
Ja	64 (66.0)	21 (58.3)	40 (70.2)	3 (75.0)		
Nein	31 (32.0)	14 (38.9)	16 (28.1)	1 (25.0)		
Unbekannt	2 (2.1)	1 (2.8)	1 (1.8)	0 (0.0)		
N Stadium (7. Edition TNM Klassifikation) – Anz. (%)					0.187	FET
N1	9 (9.3)	5 (13.9)	4 (7.0)	0 (0.0)		
N2a	27 (27.8)	12 (33.3)	14 (24.6)	1 (25.0)		
N2b	43 (44.3)	16 (44.4)	26 (45.6)	1 (25.0)		
N2c	5 (5.2)	2 (5.6)	3 (5.3)	0 (0.0)		
N3	13 (13.4)	1 (2.8)	10 (17.5)	2 (50.0)		
N Stadium (8. Edition TNM Klassifikation) – Anz. (%)					<b>&lt;0.001<sup>1</sup></b>	FET
N1	36 (37.1)	34 (94.4)	1 (1.8)	1 (25.0)		
N2	2 (2.1)	2 (5.6)		0 (0.0)		
N2a	8 (8.2)		8(14.0)			
N2b	8 (8.2)		8(14.0)			
N2c	0 (0.0)		0 (0.0)			
N3	3 (3.1)			3 (75.0)		
N3a	3 (3.1)		3 (5.3)			
N3b	37 (38.1)		37 (64.9)			
Fernmetastasen, M1 – Anz. (%)	10 (10.3)	3 (8.3)	7 (12.3)	0 (0.0)	<b>0.008</b>	FET
UICC Stadium (7. Edition) – Anz. (%)					0.217	FET
III	9 (9.3)	5 (13.9)	4 (7.0)	0 (0.0)		
IVa	67 (69.1)	27 (75.0)	38 (66.7)	2 (50.0)		
IVb	11 (11.3)	1 (2.8)	8 (14.0)	2 (50.0)		

IVc	10 (10.3)	3 (8.3)	7 (12.3)	0 (0.0)
UICC Stadium (8. Edition) – Anz. (%)				<b>&lt;0.001<sup>2</sup></b> FET
I	31 (32.0)	31 (86.1)		
II	3 (3.1)	2 (5.6)		1 (25.0)
III	1 (1.0)		1 (1.8)	0 (0.0)
IV	3 (3.1)	3 (8.3)		
IVa	20 (20.6)		17 (29.8)	3 (75.0)
IVb	32 (33.0)		32 (56.1)	0 (0.0)
IVc	7 (7.2)		7 (12.3)	

<sup>1</sup>N1 vs. N2 vs. N3

FET = Fisher's Exact Test

Anz. = Anzahl

<sup>2</sup>UICC Stadium I vs. II vs. III vs. IV

ND = neck dissection

StA = Standardabweichung

NR = Nieraucher\*innen

ER = Ehemalige Raucher\*innen

AR = Aktive Raucher\*innen

\*<sup>1</sup> Vergleich von p16+/EBV- und p16-/EBV- Patient\*innen

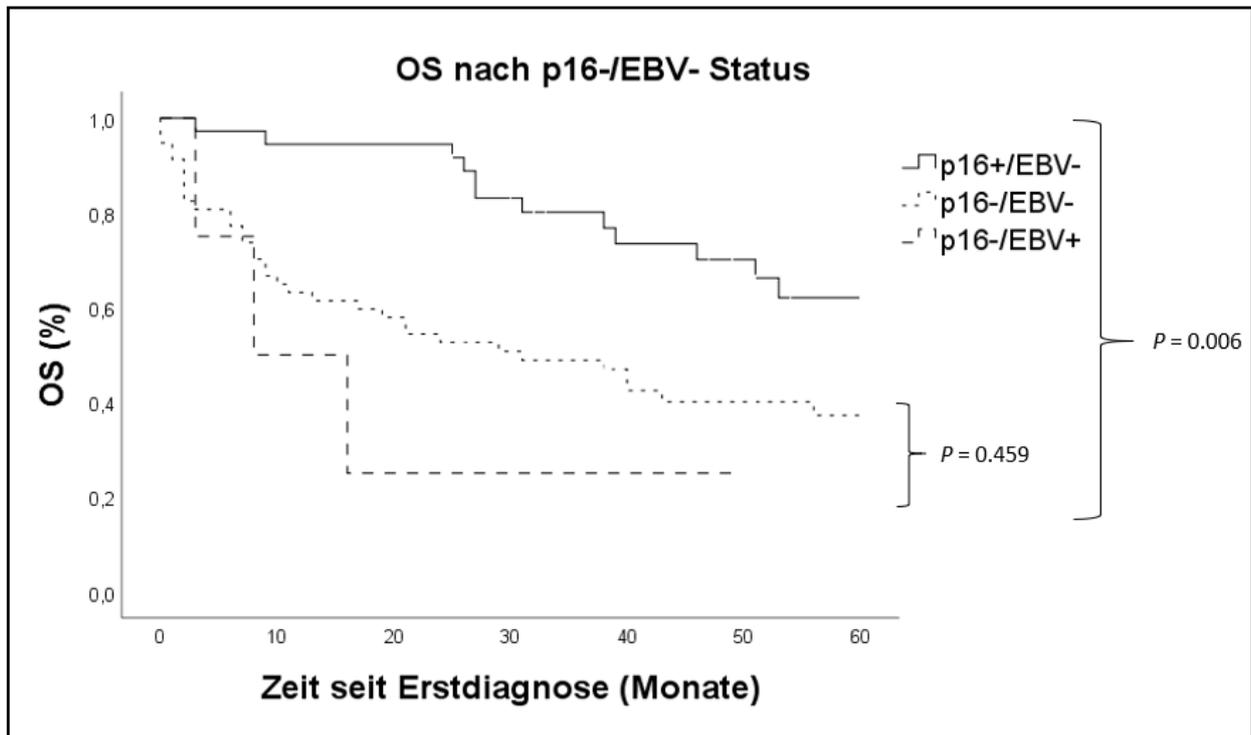
(modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021) (40).

Eine Unterteilung in drei Subgruppen wurde anhand der immunhistochemischen Färbung vorgenommen (p16+/EBV-, p16-/EBV-, p16-/EBV+). Hinsichtlich N-Stadium ( $p < 0,001$ ), M-Status ( $p = 0,008$ ) und UICC-Stadium nach TNM 8 ( $p < 0,001$ ) bestanden signifikante Unterschiede bezüglich der Gruppenzusammensetzung. P16-negative *HNCUP* Patient\*innen hatten unabhängig von ihrem EBV-Status höhere N- und UICC-Stadien (p16-/EBV-: 64,9 % N3b, 56,1 % UICC-Stadium IVb; p16-/EBV+: 75 % N3, 75 % UICC-Stadium IVa). Weitere signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen und insbesondere ihrer Patient\*innencharakteristika bestanden jedoch nicht.

### 6.3 Langzeitüberleben

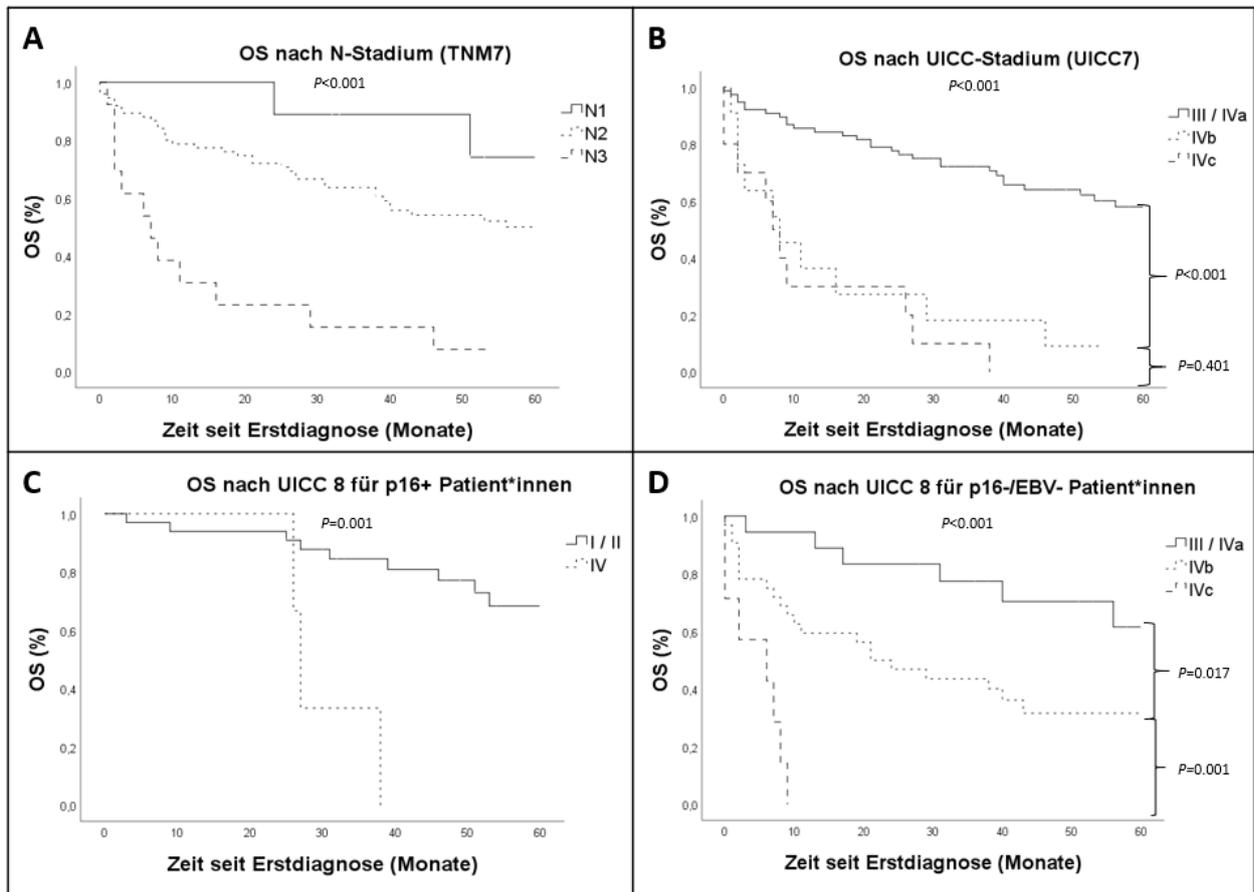
Ungefähr die Hälfte der Patient\*innen (50,5 %) starben während der Nachbeobachtungszeit von maximal 60 Monaten. Das Gesamtüberleben betrug 74,2 % nach einem Jahr, 59,8 % nach drei Jahren und 49,5 % nach fünf Jahren.

Die Abbildungen 3-5 sind modifiziert nach der oben genannten Publikation dargestellt (40). Hier ließ sich zeigen, dass das Gesamtüberleben (OS) von p16-positiven Patient\*innen mit *HNCUP* im Vergleich zu Patient\*innen mit p16-negativen *HNCUP* signifikant besser war (66,7 % vs. 40,4 % / 25 %), während es keinen signifikanten Unterschied bei p16-negativen *HNCUP* in Abhängigkeit vom EBV-Status gab ( $p = 0,459$ , Abbildung 3).



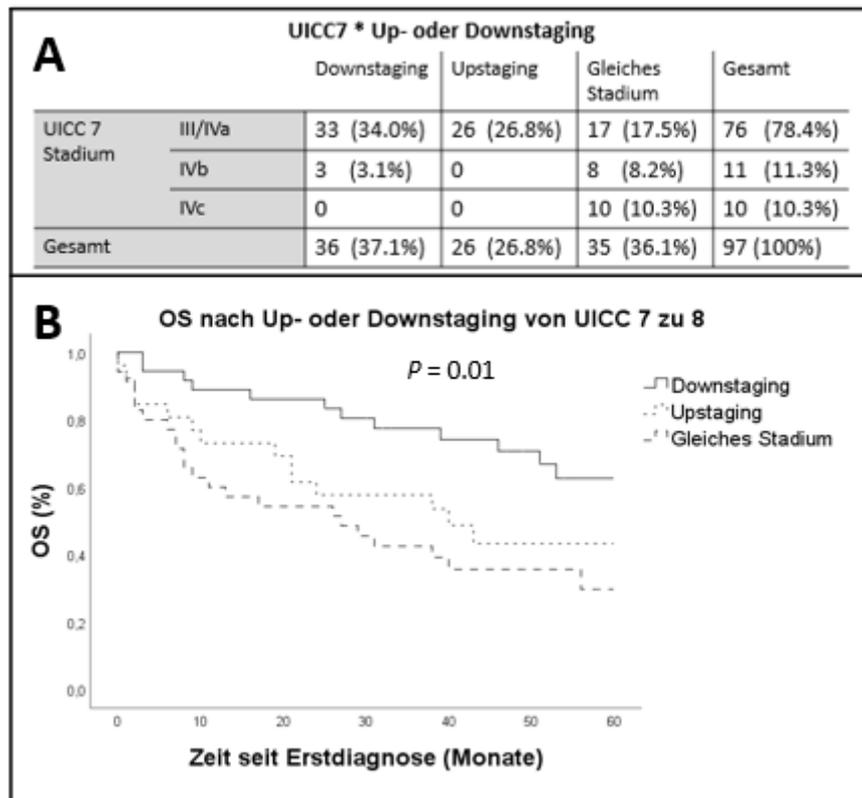
**Abbildung 3: Gesamtüberleben (OS) der 97 Patient\*innen nach p16- und EBV-Status**  
(modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021) (40).

Abbildung 4 stellt dar, dass das Gesamtüberleben von Patient\*innen mit niedrigerem N- oder UICC Stadium im Vergleich zu fortgeschrittenen Stadien signifikant besser war, dies trifft sowohl für die Stadieneinteilung nach TNM 7 und TNM 8 zu (N-Stadium TNM 7:  $p < 0,001$ , UICC-Stadium TNM 7:  $p < 0,001$ , UICC-Stadium TNM 8/p16+:  $p = 0,001$ , UICC-Stadium TNM 8/p16-:  $p < 0,001$ , Abbildung 4). Zwischen den Stadien IVb und IVc nach TNM 7 zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben der Patient\*innen (9,1 % vs. 0 % Überlebensrate nach 60 Monaten,  $p = 0,401$ ), was sich jedoch nach TNM 8 änderte (34,4 % vs. 0 % Überlebensrate nach 60 Monaten,  $p = 0,001$ , Abbildung 4). Ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den Stadien III/IVa und IVb konnte sowohl in TNM 7 als auch TNM 8 gezeigt werden (TNM 7:  $p < 0,001$ , TNM 8:  $p = 0,017$ ).



**Abbildung 4: Gesamtüberleben (OS) der 97 Patient\*innen entsprechend der UICC Staging-Systeme. (A)** OS entsprechend der Einteilung nach dem TNM 7 N-Stadium. **(B)** OS entsprechend dem TNM 7 UICC-Stadium. **(C)** OS der p16-positiven Patient\*innen (n=36) entsprechend dem TNM 8 UICC-Stadium. **(D)** OS der p16-negativen/EBV-negativen Patient\*innen (n=57) entsprechend dem TNM 8 UICC-Stadium. (modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021) (40).

Patient\*innen, welche von TNM 7 zu TNM 8 in ihrem Stadium hoch- (*upstaging*) oder heruntergestuft (*downstaging*) wurden, hatten ein verbessertes Gesamtüberleben verglichen mit Patient\*innen, die unabhängig von der TNM Edition im gleichen Stadium verblieben sind (5 Jahres OS *downstaging*: 66,7 %, *upstaging*: 46,2 %, gleiches Stadium: 34,3 %, Abbildung 5). Veränderungen in den UICC Stadien betrafen vor allem Patient\*innen in Stadium III/IVa nach TNM 7, welche bei einem positiven p16-Status in Stadium I oder II *downgestaged* (33 Patient\*innen) und bei einem negativen p16-Status und *ENE* in Stadium IVb *upgestaged* wurden (26 Patient\*innen). Bei Fernmetastasen blieben die betroffenen Patient\*innen in dem höchstmöglichen Stadium nach TNM 8 (p16+: UICC IV, p16-: UICC IVc), womit das geringste Gesamtüberleben einherging.



**Abbildung 5: Klassifikation der Studienpatient\*innen entsprechend eines Up- oder Downstaging von TNM 7 zu TNM 8. (A)** Anzahl der Patient\*innen, die von ihrem UICC 7 Stadium *up-* oder *downgestaged* wurden. **(B)** Gesamtüberleben (OS) der Patient\*innen entsprechend der Änderung ihres UICC-Stadiums von UICC 7 zu UICC 8. (modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021) (40).

## 6.4 Einflussgrößen auf das Gesamtüberleben

Die nach der Publikation „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* modifizierte Tabelle 2 führt die 5 Jahres Überlebensrate, das mittlere Überleben und den p-Wert der Kaplan Meier Analyse der einzelnen klinisch-pathologischen Variablen auf (40). Einen signifikanten positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben (OS) konnte für p16-Positivität ( $p=0,002$ ), kein *ENE* ( $p=0,001$ ), niedrigere N Stadien nach TNM 7 ( $p<0,001$ ) sowie niedrigere UICC Stadien nach UICC 7 ( $p<0,001$ ) und UICC 8 ( $p<0,001$ ) gezeigt werden.

Bei Einschluss des UICC Stadiums nach TNM 8 in das multivariate Cox-Modell zeigten sich keine anderen positiven Einflussgrößen auf das OS ( $p=0,003$ ). Im Falle einer multivariaten Analyse ohne das UICC Stadium nach TNM 8 zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf das OS durch den p16-Status ( $p=0,004$ ,  $HR=0,399$ ,  $CI=0,207-0,769$ ) und die extranodale Ausbreitung ( $p<0,001$ ,  $HR=3,536$ ,  $CI=1,65-7,58$ ), diese Faktoren sind jeweils zur Klassifikation des UICC Stadiums nach TNM 8 bei *HNCUP* grundlegend.

**Tabelle 2:** Kaplan-Meier-Analyse der klinisch-pathologischen Variablen in Bezug auf das Gesamtüberleben

Variable	Kaplan-Meier-Analyse				Kaplan-Meier-Analyse (Untergruppen)								
	Alle Patient*innen				P16+/EBV-			P16-/EBV-			P16-/EBV+		
	<i>n</i> =97	$\bar{\varnothing}$ OS (Monate/% <sup>1</sup> )	<i>P</i> -Wert		<i>n</i> =36	$\bar{\varnothing}$ OS (Monate/% <sup>1</sup> )	<i>P</i> -Wert	<i>n</i> =57	$\bar{\varnothing}$ OS (Monate/% <sup>1</sup> )	<i>P</i> -Wert	<i>n</i> =4	$\bar{\varnothing}$ OS (Monate/% <sup>1</sup> )	<i>P</i> -Wert
Alter (Jahre)	< 65	49	42/ 57.1	0.147	19	51/ 73.7	0.487	27	37/ 48.1	0.201	3	20/ 33.3	0.918
	≥ 65	48	35/ 41.7		17	48/ 58.8		30	28/ 33.3		1	16/ 0.0	
Geschlecht	Männlich	71	37/ 46.5	0.272	27	47/ 59.3	0.092	41	31/ 39.0	0.567	3	23/ 33.3	0.515
	Weiblich	26	43/ 57.7		9	56/ 88.9		16	37/ 43.8		1	8/ 0.0	
Tabakexposition	NR	10	51/ 80.0	0.106	4	52/ 75.0	0.644	5	49/ 80.0	0.247	1	49/ 100.0 †	0.182
	RH	57	38/ 49.1		21	47/ 61.9		33	36/ 45.5		3	9/ 0.0	
*Andere Krebsdiagnosen	Nein	83	38/ 49.4	0.809	31	50/ 64.5	0.476	49	32/ 40.8	0.796	3	20/ 33.3	0.918
	Ja	14	39/ 50.0		5	49/ 80.0		8	35/ 37.5		1	16/ 0.0	
P16	Negativ	61	32/ 39.3	<b>0.002</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Positiv	36	50/ 66.7		-	-		-	-		-	-	
EBV	Negativ	93	39/ 50.5	0.147	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Positiv	4	19/ 25.0		-	-		-	-		-	-	
ENE	Ja	64	32/ 37.5	<b>0.001</b>	21	46/ 57.1	0.233	40	26/ 30.0	<b>0.005</b>	3	9/ 0.0	0.182
	Nein	31	53/ 74.2		14	55/ 78.6		16	50/ 68.8		1	49/ 100.0 †	

N Stadium (7.)	1	9	55/ 77.8	<b>&lt;0.001</b>	5	57/ 80.0	0.465	4	51/ 75.0	<b>0.004</b>	-	-	0.433
	2	75	41/ 53.3		30	49/ 66.7		43	35/ 44.2		2	29/ 50.0	
	3	13	14/ 7.7		1	46/ 0.0		10	12/ 10.0		2	10/ 0.0	
UICC Stadium 7.	III/ IVa	76	45/ 61.8	<b>&lt;0.001</b>	32	51/ 75.0	<b>0.001</b>	42	40/ 52.4	<b>&lt;0.001</b>	2	29/ 50.0	0.433
	IVb	11	16/ 9.1		1	46/ 0.0		8	14/ 12.5		2	10/ 0.0	
	IVc	10	12/ 0.0		3	30/ 0.0		7	5/ 0.0		-	-	
UICC Stadium 8.	I/ II	34	50/ 70.6	<b>&lt;0.001</b>	33	52/ 72.7	<b>0.001</b>	-	-	<b>&lt;0.001</b>	1	8/ 0.0	0.515
	III/ IVa	21	45/ 61.9		-	-		18	48/ 66.7		3	23/ 33.3	
	IV	3	30/ 0.0		3	30/ 0.0		-	-		-	-	
	IVb	32	29/ 34.4		-	-		32	29/ 34.4		-	-	
	IVc	7	5/ 0.0		-	-		7	5/ 0.0		-	-	

\*diagnostizierte Krebserkrankungen vor *HNCUP* Erstdiagnose

NR = Nieraucher\*innen

<sup>1</sup>Anteil lebender Patient\*innen nach einer maximalen Nachverfolgungszeit von 60 Monate

(modifiziert nach Boeker *et al.*, 2021) (40).

†Patient\*in zensiert

RH = positive Raucherhistorie

Ein geringeres UICC Stadium nach TNM 7 wie auch nach TNM 8 zeigte unter den EBV-negativen Patient\*innen unabhängig vom p16-Status ein signifikant besseres OS in der Kaplan-Meier-Analyse (p16+: TNM 7  $p=0,001$ , TNM 8  $p=0,001$ ; p16-: TNM 7  $p<0,001$ , TNM 8  $p<0,001$ ). Lediglich für die p16-/EBV- *HNCUP* Patient\*innen hatten zusätzlich kein *ENE* ( $p=0,005$ ) und ein niedrigeres N Stadium nach TNM 7 ( $p=0,004$ ) einen signifikanten Einfluss auf das OS (Tabelle 2). Die mit vier Patient\*innen sehr kleine Gruppe der EBV+/p16- *HNCUP* wies keine signifikanten Einflussgrößen auf.

## 6.5 Raucher\*innen

67 Patient\*innen hatten dokumentierte Daten zu ihrem Rauchverhalten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, wovon 48 (71,6 %) aktive Raucher\*innen waren. 75 % der Patient\*innen mit Rauchhistorie (ehemalige oder aktive Raucher\*innen) waren männlich. Tabelle 3 stellt die klinisch-pathologischen Eigenschaften der drei Subgruppen (aktive vs. ehemalige Raucher\*innen vs. Nieraucher\*innen) dar.

68,8 % der aktiven Raucher\*innen (AR) hatten ein Alter von unter 65 Jahren bei Erstdiagnose verglichen mit 40 % der Nieraucher\*innen (NR) und 22,2 % der ehemaligen Raucher\*innen (ER). NR hatten mit 43,9 Monaten das beste mittlere Überleben nach Diagnosestellung. *ENE* wiesen alle drei Gruppen in einer ähnlichen Häufigkeit auf (Tabelle 3). Rezidive waren mit 27,1 % etwas mehr unter AR zu finden als in den anderen beiden Gruppen (NR: 10 %, ER: 11,1 %).

Ein statistisch signifikanter Unterschied in der Zusammensetzung der Gruppen ließ sich nur für das Diagnosealter finden ( $p=0,014$ ).

**Tabelle 3:** Charakteristika der Studienpatient\*innen und ihrer Tumoren nach Rauchhistorie

Variable	NR (n=10)	ER (n=9)	AR (n=48)	p-Wert	Test
Diagnosealter – Anz. (%)				<b>0,014</b>	Chi <sup>2</sup>
<65	4 (40%)	2 (22,2%)	33 (68,8%)		
≥65	6 (60%)	7 (77,8%)	15 (31,3%)		
MÜ, Monate				0,121	ANOVA
Durchschnitt (StA)	43,9 (17,4)	24,3 (23,3)	36,3 (20,7)		
ENE – Anz. (%)				0,776	Chi <sup>2</sup>
ja	6 (60%)	7 (77,8%)	33 (68,8%)		
nein	4 (40%)	2 (22,2%)	15 (31,3%)		
Rezidive – Anz. (%)				0,415	Chi <sup>2</sup>
ja	1 (10%)	1 (11,1%)	13 (27,1%)		
nein	9 (90%)	8 (88,9%)	35 (72,9%)		

MÜ = Mittleres Überleben ab Diagnosedatum

StA = Standardabweichung

Chi<sup>2</sup> = Pearson Chi-Quadrat-Test

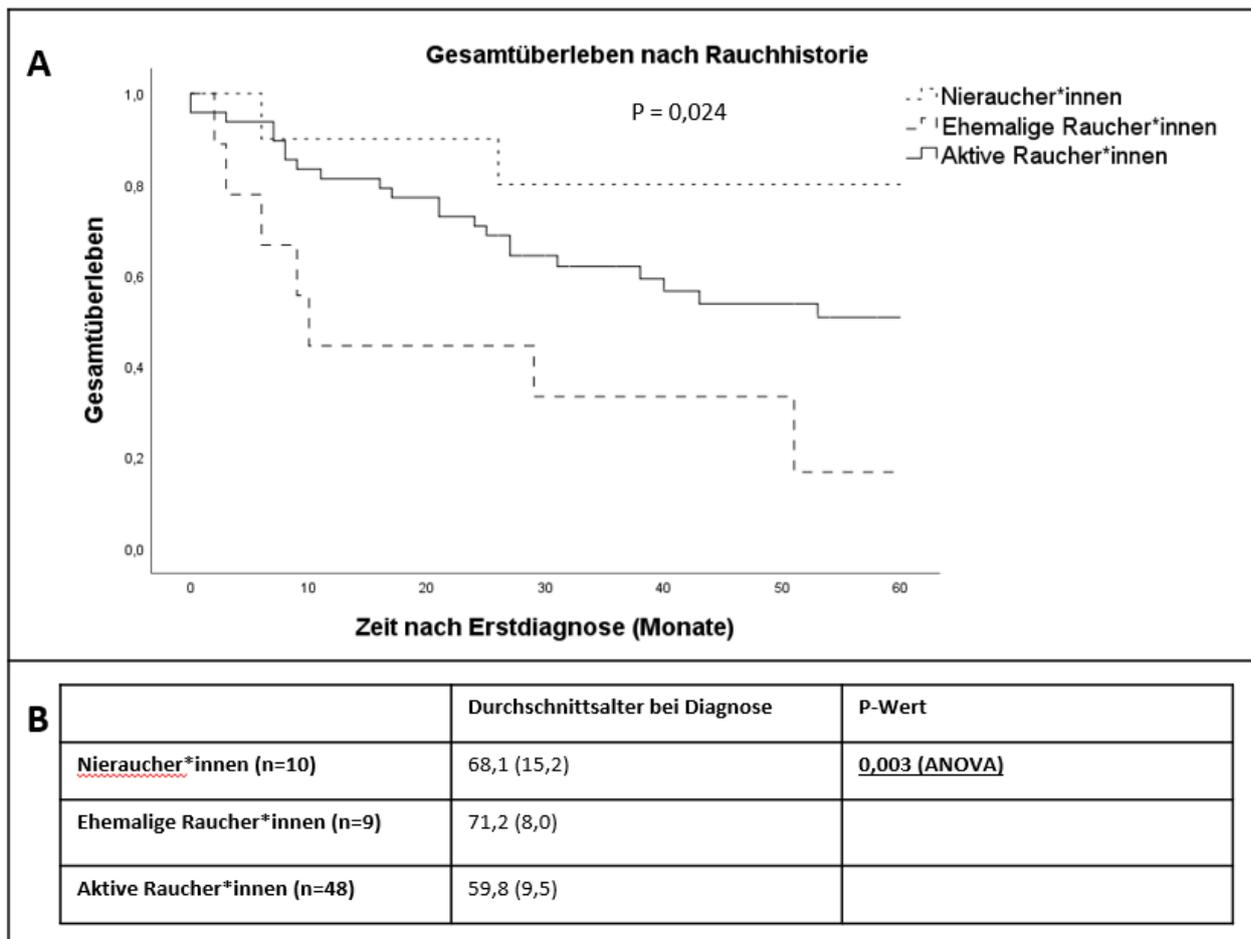
NR = Nieraucher\*innen

ER = Ehemalige Raucher\*innen

AR = Aktive Raucher\*innen

(Originalabbildung)

Abbildung 6 zeigt die Überlebenskurven der drei Gruppen, wobei NR das höchste OS aufweisen, während die Gruppe der ER das niedrigste OS zeigen. Ebenfalls ersichtlich ist das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung, hier gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen NR, ER und AR (68 vs. 71 vs. 60 Jahre, p=0,003).



**Abbildung 6: Klassifikation der Studienpatient\*innen entsprechend ihrer Rauchhistorie. (A)** Gesamtüberleben der Patient\*innen entsprechend ihrer Rauchhistorie. **(B)** Mittleres Alter der Patient\*innen bei Erstdiagnose entsprechend ihrer Rauchhistorie. (Originalabbildung)

## 7. Diskussion

### 7.1 Studienergebnisse im Kontext anderer Studien

Die bereits im Rahmen des Artikels von Boeker *et al.* begonnene Diskussion wird im Rahmen dieser Dissertation dargestellt und vertieft weitergeführt werden (40). Obwohl verschiedene Studien bereits einen positiven Effekt von p16-Positivität auf das OS von *HNCUP* Patient\*innen vermutet haben, gründet das in TNM 8 neu eingeführte Kapitel zu *HNCUP* und seine N Klassifikation auf dem Klassifikationssystem von p16+ und p16- *OPC* (20, 22). Das neue Klassifikationssystem benennt als wichtige Faktoren den HPV/p16-Status, den EBV-Status, *ENE* und die Anzahl befallener Lymphknoten, was jedoch bisher noch nie bei *HNCUP* in einer Studie

auf seine Relevanz und Anwendbarkeit untersucht wurde. Die Ergebnisse der im Rahmen meiner Dissertation angefertigten Studie, welche in unserer Publikation „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ von Boeker *et al.* (40) vorgestellt wurden, zeigen zum ersten Mal die prognostischen Unterschiede für *HNCUP* Patient\*innen nach Re-Klassifikation von TNM 7 zu TNM 8 und deren sinnvolle Anwendung. Nach Analyse der klinischen Daten von 97 Patient\*innen, welche zwischen 2009 und 2018 an der Charité diagnostiziert wurden, kamen wir zu dem Schluss, dass die neue Klassifikation nach TNM 8 für *HNCUP* unter Einschluss des HPV/p16 Status die prognostische Aussagekraft der UICC Stadien für die Patient\*innen verbessert (40).

Das durchschnittliche Patient\*innenalter von 64,6 Jahren und der Anteil an p16-positiven *HNCUP* Patient\*innen mit 37,1 % in unserer Studie ist vergleichbar mit jenen von Sivars *et al.* aus dem Jahr 2014 (21). Ein Unterschied im Hinblick auf diese Parameter bestand zu Patient\*innen aus Datenbanken von Schweden und den Vereinigten Staaten von Amerika (USA), mit einem niedrigeren Durchschnittsalter von rund 60 Jahren und einem deutlich höheren Anteil an p16-positiven *HNCUP* Patient\*innen von ca. 69 % (5, 20). Im Vergleich zu anderen Studien, besteht unsere Kohorte lediglich zu 58,8 % aus Patient\*innen mit gesicherter Rauchhistorie und hat einen dreifach höheren Anteil an Männern als Frauen (Rauchhistorie Sivars *et al.* 76 % und Tribius *et al.* 79 %) (5, 6, 20, 21).

Neben Überblicksarbeiten des schwedischen Krebsregisters in kleiner Fallzahl (n=68) und der nationalen Krebsdatenbank der USA (n=978) haben mehrere Studien in den vergangenen Jahren den Einfluss von HPV/p16 auf *HNCUP* untersucht und signifikante Vorteile im *OS* für *HNCUP* mit HPV-Assoziation (p16-Positivität) gefunden (5, 6, 20-22, 43). Der positive Einfluss der HPV/p16-Assoziation auf das Überleben von *HNCUP* Patient\*innen kann durch die vorliegende Studie bestätigt werden (*OS* p16-positiver *HNCUP* Patient\*innen gegenüber p16-negativer Patient\*innen p=0,002). Hingegen konnte für p16-/EBV+ Patient\*innen kein Überlebensvorteil gegenüber p16-/EBV- Patient\*innen gefunden werden, was sicherlich auf die geringen Fallzahlen zurückzuführen ist (Abbildung 3).

Da für EBV keine validen Daten zu seinem Einfluss auf das *OS* von *HNCUP* Patient\*innen vorliegen, die *International Agency for Research on Cancer (IARC)* jedoch EBV als ein etabliertes prokarzinogenes Agens listet, hat diese Studie als eine der größten Monocenter Studien weltweit den EBV-Status des Patient\*innenkollektivs bestimmt und seinen Einfluss auf das *OS* untersucht (23, 44, 45). Für *NPC* wurde beispielsweise durch Ruuskanen *et al.* ein prognostisch signifikanter Vorteil für EBV-positive Karzinome beschrieben, Carpén *et al.* hingegen konnten einen solchen

Einfluss auf *OPC* nicht nachweisen (23, 46). Aufgrund der mit 3,9 % sehr niedrigen Prävalenz an EBV-positiven *HNCUP* in unserem Patient\*innenkollektiv ist eine Aussage über den Einfluss von EBV-Positivität auf das *OS* von *HNCUP* Patient\*innen durch die vorliegende Studie nicht valide zu treffen. Die geringe Prävalenz (n=4) wirft überdies die Frage nach der Nützlichkeit der EBV-Determinierung im Rahmen von *HNCUP* zumindest in der deutschen Population mit geringer Inzidenz für EBV-assoziierte Tumoren wie das *NPC* auf. Jedoch kann ein positiver EBV-Status ein Hinweis auf einen möglichen Primarius im Nasopharynx geben (47, 48). Weiterführende Studien zu dieser Fragestellung sollten jedoch bei einem größeren Patient\*innenkollektiv durchgeführt werden. Zum Zeitpunkt des Erscheinens der Studie hat die Detektion von sowohl p16 als auch EBV in *HNCUP* im vorliegenden Zentrum keinen Einfluss auf die Therapie von *HNCUP*, hierzu sind klinische Studien notwendig.

Die durchgeführte Studie zeigt, dass die UICC Stadien nach TNM 8 ebenso wie die nach TNM 7 einen signifikanten Einfluss auf das *OS* der Patient\*innen haben (Tabelle 2). Indem ferner gezeigt wurde, dass zwischen den UICC Stadien IVb und IVc nach TNM 8 (nicht jedoch nach TNM 7) ein signifikanter Unterschied im *OS* besteht, kann TNM 8 eine bessere prognostische Aussagekraft im Hinblick auf das *OS* zugesprochen werden (Abbildung 4). Ursächlich hierfür ist, dass p16-negative *HNCUP* Patient\*innen mit *ENE* von Stadium III/IVa in Stadium IVb hochgestuft wurden und dieses Stadium so im *OS* näher an Stadium III/IVa herangeführt wurde, wohingegen die Zusammensetzung des Patient\*innenkollektivs von Stadium IVc von TNM 7 zu TNM 8 unverändert blieb (Abbildung 4, Abbildung 5). Patient\*innen mit p16-positiven *HNCUP* des Stadiums III/IVa nach TNM 7 werden in der neuen Klassifikation nach TNM 8 niedrigeren Stadien zugeteilt (Abbildung 5).

Ein signifikanter Einfluss auf das *OS* konnte für das N-Stadium und *ENE* in Patient\*innen mit p16-negativen *HNCUP* gefunden werden, nicht jedoch für Patient\*innen mit p16-positiven *HNCUP* (Tabelle 2). Bereits in älteren Studien wurde ein solcher Mangel an Signifikanz von N-Stadien nach TNM 7 und *ENE* für p16-positive *HNCUP* wie auch *OPC* beschrieben (49, 50). Ein vorbeschriebener signifikanter Einfluss von *ENE* auf das *OS* p16-negativer/ EBV-negativer *HNCUP* Patient\*innen konnte durch die vorliegende Studie bestätigt werden (Tabelle 2) (49). Insgesamt ist dies mit den Ergebnissen anderer Studien, welche *ENE* und p16 als wichtige prognostische Faktoren benennen, übereinstimmend und unterstreicht die Validität des Klassifikationssystems nach TNM 8 (43, 51). *ENE* sollte weiterhin ein Faktor in der Klassifikation von p16-negativen *HNCUP*, nicht jedoch in der von p16-positiven *HNCUP* nach TNM 8 darstellen

(18). Die achte Version der TNM Klassifikation maligner Tumoren der UICC ist insgesamt gut anwendbar auf *HNCUP*.

## 7.2 Rauchen und seine Bedeutung für *HNCUP*

Der Anteil an Patient\*innen mit gesicherter Rauchhistorie ist in der vorliegenden Studienpopulation schwächer ausgeprägt als in anderen vergleichbaren Studien (6, 21). In einer retrospektiven, monozentrischen deutschen Studie von Tribius *et al.* konnte ein positiver Effekt auf das *OS* bei Nichtraucher\*innen mit p16-positiven *HNCUP* gezeigt werden, auch die Daten von Sivars *et al.* deuten einen solchen Effekt an, auch wenn hier kein signifikantes Ergebnis in der statistischen Auswertung gezeigt werden konnte (6, 21). Die Daten der vorliegenden Studie bestätigen diese Ergebnisse mit einem mittleren Überleben von 43,9 Monaten (NR) vs. 24,3 Monate (ER) vs. 36,3 Monate (AR) (Tabelle 3). Das schlechtere *OS* der ER gegenüber den AR kann dadurch erklärt werden, dass das durchschnittliche Alter der ER bei Erstdiagnose signifikant höher lag als das der AR (Abbildung 6).

Für *OPC* sind ebenfalls ähnliche Einflüsse von Rauchen auf das *OS* beschrieben. Gillison *et al.* haben in ihrer wegweisenden Studie aus 2012 einen proportionalen Anstieg des Sterberisikos der Patient\*innen mit einem Prozent pro zusätzlichem *pack year* angegeben (37). Ang *et al.* analysierten in der prospektiven, multizentrischen RTOG (*Radiation Oncology Group*)-Studie zur primären Radiochemotherapie mit 2 oder 3 Zyklen simultaner Gabe von Hochdosis-Cisplatin bei 720 Patient\*innen retrospektiv das *OS* (14). In Abhängigkeit vom HPV-Status, der Anzahl an *pack years* und dem Tumorstadium wurden anhand dieser Daten erstmalig die Risikogruppen in „*low*“, „*intermediate*“ und „*high*“ definiert (14). Hier zeigte sich unter anderem ein Überlebensvorteil von HPV-positiven *OPC* Patient\*innen mit niedrigen *pack years* gegenüber Patient\*innen mit HPV-negativen *OPCs* und höheren *pack years*. Aufgrund der unzureichenden Datenlage zur Rauchhistorie konnte eine solche Risikogruppeneinteilung im Rahmen der vorliegenden Studie nicht vorgenommen werden. Gerade im Hinblick auf eine mögliche risikostratifizierte Anpassung des Therapieregimes (Deeskalation oder Intensivierung) bei *HNCUP*, erscheint eine Risikogruppeneinteilung auf der Basis dieser Faktoren für Patient\*innen mit *HNCUP* vielversprechend und sollte ähnlich den Strategien beim *OPC* in klinischen Studien verfolgt werden.

### 7.3 Weiterführende Fragestellungen bezüglich Diagnostik und Therapie

Eine Debatte über optimierte Therapieregime mit der Möglichkeit einer Deintensivierung (De-Eskalation) der Therapie zur Verringerung von (Spät-)Nebenwirkungen und ggf. der Verbesserung der Lebensqualität von Patient\*innen mit p16-positiven *HNCUP* sollte durch die Unterschiede in der Prognose nach Klassifikation mittels der achten Version der TNM Klassifikation angestrebt werden. Bisher fehlen prospektive Studien aufgrund der geringen Inzidenz von *HNCUP*. Kamal *et al.* konnten keinen Vorteil einer bilateralen Bestrahlung mit Chemotherapie oder *neck dissection* gegenüber einer bilateralen Bestrahlung des Halses und der Mukosa in IMRT Technik nachweisen (51). La Vigne *et al.* fanden weniger Therapienebenwirkungen bei Reduktion der Gesamtbestrahlungsdosis der Mukosa des Rachens (56 vs.  $\geq 60$  Gy) und Volumenreduktion durch Exklusion der Larynxregion bei statistisch gleichem *OS* (52). Während eine 76 Patient\*innen umfassende Studie von Le *et al.* keinen signifikanten Unterschied im *OS* zwischen ipsilateral und bilateral bestrahlten Patient\*innen finden konnte, zeigte eine ältere Studie von Grau *et al.* einen solchen Nachteil für Patient\*innen, welche nur ipsilateral bestrahlt wurden (28, 53). So zeigt sich eine Tendenz zu weniger Nebenwirkungen und vergleichbarem Outcome bei deintensivierter Therapie, jedoch müssen prospektive Studien für p16-positive *HNCUP* vs. p16-negative *HNCUP* angestrebt werden. Das bessere Überleben von *HNCUP* Patient\*innen mit positivem p16-Status, wie in unserer Studie und weiteren Studien gezeigt, beruht wie beim *OPC* auf retrospektiven Daten mit unveränderter Therapie, Unterschiede in der Therapie von p16-positiven und p16-negativen *HNCUP* sind erst nach Durchführung prospektiver Studien mit vergleichbar guten Überlebensdaten gerechtfertigt (54, 55). Gerade die ersten Ergebnisse aus zwei unabhängigen prospektiven multizentrischen Phase III Studien zur De-Eskalation bei p16-positiven *low*- und *intermediate*-Risiko *OPC* haben ein schlechteres Gesamtüberleben und keine Verbesserung der Nebenwirkungen gezeigt, sodass hier noch Vorsicht geboten ist (35, 56).

Die Suche nach dem Primärtumor bleibt für die Patient\*innen die beste Chance, eine evidenzbasierte Therapie zu erhalten. Die transorale robotische Chirurgie wurde in je zwei kleineren Studien untersucht, hierbei ergaben sich Detektionsraten von 71,4 % (Krishnan *et al.*) und 13 % in der zweiten Studie, bei der nur p16-negative *HNCUP* eingeschlossen wurden (Kubik *et al.*) (31, 57). Unter den 71,4 % detektierten Primärtumoren von Krishnan *et al.* waren ausschließlich p16-positive *HNCUP*, was die positiven Effekte dieser Diagnostik für p16-negative *HNCUP* generell infrage stellen könnte. Die *transoral laser microsurgery (TLM)* hingegen zeigt außerordentlich hohe Detektionsraten. Herruer *et al.* fanden mit einem Protokoll aus FDG-PET-CT und *TLM* in ca. 90 % der Fälle den Primarius, wodurch in der Folge bei einem Drittel der Fälle

eine adjuvante Therapie vermieden werden konnte (30). Karni *et al.* erreichten in einer Studie mit 30 Patient\*innen sogar eine Detektionsrate von 94 % (37 % Gaumenmandel, 63 % Zungenbasis) (58).

#### **7.4 Limitationen, klinische Anwendung und Anteil**

Der retrospektive Ansatz dieser Studie ist die Hauptlimitation der Arbeit. Da die Dokumentation klinisch-pathologischer Variablen interindividuell zwischen den Untersuchenden unterschiedlich ist, konnten Daten zur Rauchhistorie, Therapie und der Nachsorge nicht konsistent mit gleicher Qualität erhoben und dokumentiert werden. Aufgrund der geringen Inzidenz des *HNCUP*-Syndroms ist die statistische Aussagekraft durch die relativ geringe Patient\*innenzahl verringert und auch die Durchführung prospektiver Studien sehr schwierig.

Aufgrund der dennoch klaren Ergebnisse unserer Studie kann in Hinblick auf die prognostische Aussagekraft der neuen, achten Version der TNM Klassifikation für Patient\*innen mit *HNCUP* eine verbesserte Prognosevorhersage erreicht werden. Die neue Klassifikation und das neue Kapitel zu *HNCUP* können die Entwicklung im Management der Erkrankung positiv unterstützen.

Die Datenerfassung, statistische Auswertung, das Erstellen der Abbildungen 3-6 und aller Tabellen, die Interpretation der Ergebnisse und die Diskussion erfolgten von mir eigenständig im Rahmen der Publikation mit dem Titel „*Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*“ und dieser Doktorarbeit. Alle Schritte entstanden in enger Rücksprache und mit Einwirken durch Frau PD Dr. Coordes.

#### **7.5 Zusammenfassung**

Aufgrund der prognostischen Signifikanz in jedem einzelnen UICC Stadium (I bis IVc) ist die achte Version der TNM Klassifikation für *HNCUP* aussagekräftig und im klinischen Kontext anwendbar. Für Patient\*innen mit p16-negativen, nicht jedoch p16-positiven *HNCUP* sollte *ENE* als Faktor einbezogen werden. Bei rauchenden Patient\*innen ist ein signifikant früheres Erkrankungsalter festzustellen, ebenso ein signifikant jüngeres Todesalter, verglichen mit ehemaligen Rauchenden und Nierauchenden.

## 8. Referenzen

1. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016 [Internet]. 2016 [cited 11.04.2021]. Available from: [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen/Epidemiologie/Kapitel2\\_Epidemiologie.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen/Epidemiologie/Kapitel2_Epidemiologie.pdf?__blob=publicationFile).
2. Wallace A, Richards GM, Harari PM, Kirwan JM, Morris CG, Katakam H, Mendenhall WM. Head and neck squamous cell carcinoma from an unknown primary site. *Am J Otolaryngol*. 2011;32(4):286-90.
3. Guntinas-Lichius O, Peter Klussmann J, Dinh S, Dinh M, Schmidt M, Semrau R, Mueller RP. Diagnostic work-up and outcome of cervical metastases from an unknown primary. *Acta Otolaryngol*. 2006;126(5):536-44.
4. Deschler DG, Richmon JD, Khariwala SS, Ferris RL, Wang MB. The "new" head and neck cancer patient-young, nonsmoker, nondrinker, and HPV positive: evaluation. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;151(3):375-80.
5. Axelsson L, Nyman J, Haugen-Cange H, Bove M, Johansson L, De Lara S, Kovacs A, Hammerlid E. Prognostic factors for head and neck cancer of unknown primary including the impact of human papilloma virus infection. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017;46(1):45.
6. Tribius S, Hoffmann AS, Bastrop S, Gorogh T, Haag J, Rocken C, Clauditz T, Grob T, Wilczak W, Tennstedt P, Borchering A, Petersen C, Hoffmann M. HPV status in patients with head and neck of carcinoma of unknown primary site: HPV, tobacco smoking, and outcome. *Oral Oncol*. 2012;48(11):1178-84.
7. Chernock RD, Lewis JS. Approach to metastatic carcinoma of unknown primary in the head and neck: squamous cell carcinoma and beyond. *Head Neck Pathol*. 2015;9(1):6-15.
8. Abogunrin S, Di Tanna GL, Keeping S, Carroll S, Iheanacho I. Prevalence of human papillomavirus in head and neck cancers in European populations: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2014;14:968.
9. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(2):467-75.
10. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, Graubard BI, Chaturvedi AK. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA*. 2012;307(7):693-703.
11. Keller AZ, Terris M. The association of alcohol and tobacco with cancer of the mouth and pharynx. *Am J Public Health Nations Health*. 1965;55(10):1578-85.
12. Rickinson AB. Co-infections, inflammation and oncogenesis: future directions for EBV research. *Semin Cancer Biol*. 2014;26:99-115.
13. Chang ET, Adami HO. The enigmatic epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(10):1765-77.
14. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, Lu C, Kim H, Axelrod R, Silverman CC, Redmond KP, Gillison ML. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(1):24-35.
15. Leslie H. Sobin MKG, Christian Wittekind. *TNM Classification of Malignant Tumours - seventh edition*: Wiley-Blackwell; 2011. 336 p.
16. Amin MB, et al. *AJCC Cancer Staging Manual - eighth edition*: American College of Surgeons; 2016. 1049 p.
17. O'Sullivan B, Huang SH, Su J, Garden AS, Sturgis EM, Dahlstrom K, Lee N, Riaz N, Pei X, Koyfman SA, Adelstein D, Burkey BB, Friborg J, Kristensen CA, Gothelf AB, Hoebbers F, Kremer B, Speel EJ, Bowles DW, Raben D, Karam SD, Yu E, Xu W. Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-S): a multicentre cohort study. *Lancet Oncol*. 2016;17(4):440-51.
18. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM Classification of Malignant Tumors - eighth edition*: Wiley-Blackwell; 2016. 272 p.

19. Head, Neck Cancer Study G, Monden N, Asakage T, Kiyota N, Homma A, Matsuura K, Hanai N, Kodaira T, Zenda S, Fujii H, Tahara M, Yokota T, Akimoto T, Iwae S, Onitsuka T, Ogawa T, Okano S, Takahashi S, Shimizu Y, Yonezawa K, Hayashi R. A review of head and neck cancer staging system in the TNM classification of malignant tumors (eighth edition). *Jpn J Clin Oncol*. 2019;49(7):589-95.
20. Cheraghlou S, Torabi SJ, Husain ZA, Otremba MD, Osborn HA, Mehra S, Yarbrough WG, Burtness BA, Judson BL. HPV status in unknown primary head and neck cancer: Prognosis and treatment outcomes. *Laryngoscope*. 2019;129(3):684-91.
21. Sivars L, Nasman A, Tertipis N, Vlastos A, Ramqvist T, Dalianis T, Munck-Wikland E, Nordemar S. Human papillomavirus and p53 expression in cancer of unknown primary in the head and neck region in relation to clinical outcome. *Cancer Med*. 2014;3(2):376-84.
22. Dixon PR, Au M, Hosni A, Perez-Ordóñez B, Weinreb I, Xu W, Song Y, Huang SH, O'Sullivan B, Goldstein DP, de Almeida JR. Impact of p16 expression, nodal status, and smoking on oncologic outcomes of patients with head and neck unknown primary squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38(9):1347-53.
23. Ruuskanen M, Irjala H, Minn H, Vahlberg T, Randen-Brady R, Hagstrom J, Syrjanen S, Leivo I. Epstein-Barr virus and human papillomaviruses as favorable prognostic factors in nasopharyngeal carcinoma: A nationwide study in Finland. *Head Neck*. 2019;41(2):349-57.
24. Jia WH, Huang QH, Liao J, Ye W, Shugart YY, Liu Q, Chen LZ, Li YH, Lin X, Wen FL, Adami HO, Zeng Y, Zeng YX. Trends in incidence and mortality of nasopharyngeal carcinoma over a 20-25 year period (1978/1983-2002) in Sihui and Cangwu counties in southern China. *BMC Cancer*. 2006;6:178.
25. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
26. Mani N, George MM, Nash L, Anwar B, Homer JJ. Role of 18-Fluodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography and subsequent panendoscopy in head and neck squamous cell carcinoma of unknown primary. *Laryngoscope*. 2016;126(6):1354-8.
27. Bakhshayesh Karam M, Doroudinia A, Safavi Nainee A, Kaghazchi F, Yousefi Koma A, Mehrian P, Agha Hossein F. Role of FDG PET/CT Scan in Head and Neck Cancer Patients. *Arch Iran Med*. 2017;20(7):452-8.
28. Grau C, Johansen LV, Jakobsen J, Geertsen P, Andersen E, Jensen BB. Cervical lymph node metastases from unknown primary tumours. Results from a national survey by the Danish Society for Head and Neck Oncology. *Radiother Oncol*. 2000;55(2):121-9.
29. Lee MY, Fowler N, Adelstein D, Koyfman S, Prendes B, Burkey BB. Detection and Oncologic Outcomes of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma of Unknown Primary Origin. *Anticancer Res*. 2020;40(8):4207-14.
30. Herruer JM, Taylor SM, MacKay CA, Ubayasiri KM, Lammers D, Kuta V, Bullock MJ, Corsten MJ, Trites JRB, Rigby MH. Intraoperative Primary Tumor Identification and Margin Assessment in Head and Neck Unknown Primary Tumors. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;162(3):313-8.
31. Krishnan S, Connell J, Ofo E. Transoral robotic surgery base of tongue mucosectomy for head and neck cancer of unknown primary. *ANZ J Surg*. 2017;87(12):E281-E4.
32. Guideline: Head and Neck Cancers (Version 1.2020 - February 12, 2020 [Internet]. [cited 04/27/2020]. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/default.aspx#occult](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#occult).
33. Schiff BA, Roberts DB, El-Naggar A, Garden AS, Myers JN. Selective vs modified radical neck dissection and postoperative radiotherapy vs observation in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;131(10):874-8.
34. Sher DJ, Balboni TA, Haddad RI, Norris CM, Jr., Posner MR, Wirth LJ, Goguen LA, Annino D, Tishler RB. Efficacy and toxicity of chemoradiotherapy using intensity-modulated radiotherapy for unknown primary of head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;80(5):1405-11.

35. Gillison ML, Trotti AM, Harris J, Eisbruch A, Harari PM, Adelstein DJ, Jordan RCK, Zhao W, Sturgis EM, Burtness B, Ridge JA, Ringash J, Galvin J, Yao M, Koyfman SA, Blakaj DM, Razaq MA, Colevas AD, Beitler JJ, Jones CU, Dunlap NE, Seaward SA, Spencer S, Galloway TJ, Phan J, Dignam JJ, Le QT. Radiotherapy plus cetuximab or cisplatin in human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (NRG Oncology RTOG 1016): a randomised, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet*. 2019;393(10166):40-50.
36. Schroeder L, Pring M, Ingarfield K, Pawlita M, Leary SD, Thomas SJ, Waylen A, Waterboer T, Ness AR. HPV driven squamous cell head and neck cancer of unknown primary is likely to be HPV driven squamous cell oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*. 2020;107:104721.
37. Gillison ML, Zhang Q, Jordan R, Xiao W, Westra WH, Trotti A, Spencer S, Harris J, Chung CH, Ang KK. Tobacco smoking and increased risk of death and progression for patients with p16-positive and p16-negative oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):2102-11.
38. Zhou MJ, van Zante A, Lazar AA, Groppo ER, Garsa AA, Ryan WR, El-Sayed IH, Eisele DW, Yom SS. Squamous cell carcinoma of unknown primary of the head and neck: Favorable prognostic factors comparable to those in oropharyngeal cancer. *Head Neck*. 2018;40(5):904-16.
39. Cho WK, Roh JL, Cho KJ, Choi SH, Nam SY, Kim SY. Predictors of survival and recurrence after primary surgery for cervical metastasis of unknown primary. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019.
40. Boeker R, Stromberger C, Heiland M, Beck-Broichsitter B, Hofmann VM, Neumann K, Ochsenreither S, Olze H, Dommerich S, Piwonski I, Coordes A. Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Laryngoscope*. 2021;131(9):E2534-E42.
41. Shi W, Kato H, Perez-Ordóñez B, Pintilie M, Huang S, Hui A, O'Sullivan B, Waldron J, Cummings B, Kim J, Ringash J, Dawson LA, Gullane P, Siu L, Gillison M, Liu FF. Comparative prognostic value of HPV16 E6 mRNA compared with in situ hybridization for human oropharyngeal squamous carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6213-21.
42. Smart P MH, Polderman A. The SAMPL Guidelines. *Science Editors' Handbook: European Association of Science Editors*; 2013.
43. Schroeder L, Boscolo-Rizzo P, Dal Cin E, Romeo S, Baboci L, Dyckhoff G, Hess J, Lucena-Porcel C, Byl A, Becker N, Alemany L, Castellsague X, Quer M, Leon X, Wiesenfarth M, Pawlita M, Holzinger D. Human papillomavirus as prognostic marker with rising prevalence in neck squamous cell carcinoma of unknown primary: A retrospective multicentre study. *Eur J Cancer*. 2017;74:73-81.
44. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V, Group WHOIAfRoCMW. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009;10(4):321-2.
45. Raab-Traub N. Novel mechanisms of EBV-induced oncogenesis. *Curr Opin Virol*. 2012;2(4):453-8.
46. Carpen T, Syrjanen S, Jouhi L, Randen-Brady R, Haglund C, Makitie A, Mattila PS, Hagstrom J. Epstein-Barr virus (EBV) and polyomaviruses are detectable in oropharyngeal cancer and EBV may have prognostic impact. *Cancer Immunol Immunother*. 2020.
47. Cheol Park G, Roh JL, Cho KJ, Seung Kim J, Hyeon Jin M, Choi SH, Yuhl Nam S, Yoon Kim S. (18) F-FDG PET/CT vs. human papillomavirus, p16 and Epstein-Barr virus detection in cervical metastatic lymph nodes for identifying primary tumors. *Int J Cancer*. 2017;140(6):1405-12.
48. Luo WJ, Feng YF, Guo R, Tang LL, Chen L, Zhou GQ, Li WF, Liu X, Sun Y, Lin AH, Ma J, Mao YP. Patterns of EBV-positive cervical lymph node involvement in head and neck cancer and implications for the management of nasopharyngeal carcinoma T0 classification. *Oral Oncol*. 2019;91:7-12.
49. Hong AM, Martin A, Armstrong BK, Lee CS, Jones D, Chatfield MD, Zhang M, Harnett G, Clark J, Elliott M, Milross C, Smee R, Corry J, Liu C, Porceddu S, Vaska K, Veness M, Morgan G, Fogarty G, Veivers D, Rees G, Rose B. Human papillomavirus modifies the prognostic significance of T stage and possibly N stage in tonsillar cancer. *Ann Oncol*. 2013;24(1):215-9.
50. Keane FK, Chen YH, Neville BA, Tishler RB, Schoenfeld JD, Catalano PJ, Margalit DN. Changing prognostic significance of tumor stage and nodal stage in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx in the human papillomavirus era. *Cancer*. 2015;121(15):2594-602.

51. Kamal M, Mohamed ASR, Fuller CD, Sturgis EM, Johnson FM, Morrison WH, Gunn GB, Hutcheson KA, Phan J, Volpe S, Ng SP, Ferrarotto R, Frank SJ, Skinner HD, Rosenthal DI, Garden AS. Outcomes of patients diagnosed with carcinoma metastatic to the neck from an unknown primary source and treated with intensity-modulated radiation therapy. *Cancer*. 2018;124(7):1415-27.
52. LaVigne AW, Margalit DN, Rawal B, Puzanov M, Annino DJ, Goguen LA, Sher DJ, Schoenfeld JD, Chau NG, Lorch JH, Rabinowits G, Haddad RI, Tishler RB. IMRT-based treatment of unknown primary malignancy of the head and neck: Outcomes and improved toxicity with decreased mucosal dose and larynx sparing. *Head Neck*. 2019;41(4):959-66.
53. Le NS, Janik S, Simmel H, Erovic BM. Bilateral vs ipsilateral adjuvant radiotherapy in patients with cancer of unknown primary of the head and neck: An analysis of the clinical outcome and radiation-induced side effects. *Head Neck*. 2019;41(6):1785-94.
54. Piazza C, Incandela F, Giannini L. Unknown primary of the head and neck: a new entry in the TNM staging system with old dilemmas for everyday practice. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;27(2):73-9.
55. Rassy E, Nicolai P, Pavlidis N. Comprehensive management of HPV-related squamous cell carcinoma of the head and neck of unknown primary. *Head Neck*. 2019;41(10):3700-11.
56. Mehanna H, Robinson M, Hartley A, Kong A, Foran B, Fulton-Lieuw T, Dalby M, Mistry P, Sen M, O'Toole L, Al Booz H, Dyker K, Moleron R, Whitaker S, Brennan S, Cook A, Griffin M, Aynsley E, Rolles M, De Winton E, Chan A, Srinivasan D, Nixon I, Grumett J, Leemans CR, Buter J, Henderson J, Harrington K, McConkey C, Gray A, Dunn J, De EHPVTG. Radiotherapy plus cisplatin or cetuximab in low-risk human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer (De-ESCALaTE HPV): an open-label randomised controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393(10166):51-60.
57. Kubik MW, Channir HI, Rubek N, Kim S, Ferris RL, von Buchwald C, Duvvuri U. TORS Base-of-Tongue Mucosectomy in Human Papilloma Virus-Negative Carcinoma of Unknown Primary. *Laryngoscope*. 2020.
58. Karni RJ, Rich JT, Sinha P, Haughey BH. Transoral laser microsurgery: a new approach for unknown primaries of the head and neck. *Laryngoscope*. 2011;121(6):1194-201.

## 9. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Robert Boeker, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

**Die achte Version der TNM Klassifikation und ihr Einfluss auf die Prognosevalidität für Kopf-Hals Tumoren ohne identifizierbaren Ursprung / The eighth version of the TNM Classification and its influence on the validity of the prognosis for Head and Neck Cancer of Unknown Primary**

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

---

Datum

---

Unterschrift

## 10. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Robert Boeker hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

**Publikation 1:** Boeker R, Stromberger C, Heiland M, Beck-Broichsitter B, Hofmann VM, Neumann K, Ochsenreither S, Olze H, Dommerich S, Piwonski I, Coordes A. *Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*, The Laryngoscope, 2021, doi: 10.1002/lary.29499, Volume 131, Issue 9, p.E2534-E2542

Beitrag im Einzelnen:

Die Datenerfassung aus den Patient\*innenakten im SAP-System der Charité erfolgten durch mich und wurden in der Primärdatentabelle eigenständig zusammengetragen. Die fehlenden immunhistochemischen Daten wurden durch Frau Dr. med. Piwonski analysiert und zu unseren Studiendaten hinzugefügt. Die statistische Auswertung und Einordnung der Daten wurde durch mich vorgenommen und durch Herrn Dr. rer. nat. Neumann und Frau PD Dr. med. Coordes überprüft. Bis auf die Abbildungen eins und zwei sind alle Abbildungen und Tabellen, welche sich im Rahmen der Publikation und Dissertation finden eigenständig durch mich erstellt worden. Die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse erfolgte durch mich und in Rücksprache mit Frau PD Dr. med. Coordes. Das Erstellen des Manuskripts erfolgte als Basisentwurf durch mich und wurde in enger Zusammenarbeit mit Frau PD Dr. med. Coordes und schließlich allen hier aufgeführten Coautor\*innen finalisiert.

---

Unterschrift des Doktoranden

## 11. Auszug aus der Journal Summary Liste (ISI Web of Knowledge)

Datum des Einreichens beim Journal 30.09.2021 / Erste Veröffentlichung (online): 18.03.2021

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE, SSCI  
 Selected Categories: "OTORHINOLARYNGOLOGY" Selected Category  
 Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 42 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	JAMA Otolaryngology-Head & Neck Surgery	3,492	3.848	0.012300
2	HEARING RESEARCH	11,072	3.693	0.012480
3	EAR AND HEARING	6,719	3.129	0.007240
4	RHINOLOGY	2,608	3.019	0.002710
5	JOURNAL OF VESTIBULAR RESEARCH-EQUILIBRIUM & ORIENTATION	1,305	2.816	0.001640
6	JARO-JOURNAL OF THE ASSOCIATION FOR RESEARCH IN OTOLARYNGOLOGY	2,462	2.760	0.003260
7	International Forum of Allergy & Rhinology	2,999	2.611	0.007000
8	DYSPHAGIA	3,786	2.591	0.003960
9	HEAD AND NECK-JOURNAL FOR THE SCIENCES AND SPECIALTIES OF THE HEAD AND NECK	12,365	2.538	0.017880
10	LARYNGOSCOPE	23,866	2.465	0.025750
11	OTOLARYNGOLOGY-HEAD AND NECK SURGERY	14,236	2.341	0.016510
12	Trends in Hearing	647	2.244	0.002390
13	CLINICAL OTOLARYNGOLOGY	3,509	2.197	0.004950
14	Clinical and Experimental Otorhinolaryngology	828	1.979	0.001500
15	American Journal of Rhinology & Allergy	3,439	1.943	0.003520
16	JOURNAL OF VOICE	5,641	1.903	0.004690
17	Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery	2,099	1.852	0.002680
18	INTERNATIONAL JOURNAL OF AUDIOLOGY	3,791	1.832	0.005250

## 12. Publikation

Boeker R, Stromberger C, Heiland M, Beck-Broichsitter B, Hofmann VM, Neumann K, Ochsenreither S, Olze H, Dommerich S, Piwonski I, Coordes A. *Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*, *The Laryngoscope*, 2021

doi: 10.1002/lary.29499, Volume 131, Issue 9, p.E2534-E2542

<https://doi.org/10.1002/lary.29499>

## **13. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 14. Publikationsliste

### Publikationen:

- 18.03.2021 Boeker R, Stromberger C, Heiland M, Beck-Broichsitter B, Hofmann VM, Neumann K, Ochsenreither S, Olze H, Dommerich S, Piwonski I, Coordes A. *Carcinoma of Unknown Primary and the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer*, The Laryngoscope, 2021  
doi: 10.1002/lary.29499, Volume 131, Issue 9, p.E2534-E2542

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich bei Frau PD Dr. med. Annekatriin Coordes bedanken, die mir dieses interessante Thema zur Verfügung gestellt hat und bei Fragen jederzeit ansprechbar war. Durch ihr aktives Engagement im Rahmen der Betreuung konnte die Studie und meine Dissertation zügig und fokussiert vorangebracht und schließlich zu einem guten Ergebnis geführt werden.

Ebenso gilt mein Dank Frau PD Dr. med. Carmen Stromberger, welche mir mit praktischen und fachlichen Ratschlägen jederzeit zur Seite stand und für das gute Gelingen dieser Dissertation mitverantwortlich war.

Besonders danke ich auch meinen Eltern, meiner Schwester, meiner Freundin und meinen Freunden für ihr stets offenes Ohr und aufmunternden Gespräche, wenn etwas mal nicht nach Plan lief.