

Aus dem
CharitéCentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie
Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. Max Heiland

Habilitationschrift

Bedeutung und Komplikationen der zervikalen Lymphknotenausräumung in der Therapie des Mundhöhlenkarzinoms

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Dr. med. dent. Steffen Koerdt

Eingereicht: September 2021
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hans-Peter Howaldt
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Rainer Schmelzeisen

Was ist das Schwerste von allem?

Was dir das Leichteste dünkt: Mit den Augen zu sehen, was vor den Augen dir lieget.

Johann Wolfgang von Goethe

Inhaltsverzeichnis.....	1
Abkürzungsverzeichnis.....	2
1. Einleitung.....	3
2. Eigene Arbeiten.....	8
2.1 Lymph node management in oral cancer. Analysis of a standardized approach.	
2.2 Evaluation of neck dissection with frozen section biopsy – Management of levels IV and V.	
2.3 An expression analysis of marker proteins of radiation-induced skin fibrosis in wound healing disorders of the head and neck.	
2.4 Radiotherapy decreases the cutaneous expression of antimicrobial peptides.	
2.5 An immunohistochemical study on the role of oxidative and nitrosative stress in irradiated skin.	
2.6 NOS1-, NOS3-, PIK3CA-, and MAPK-pathways in skin following radiation therapy.	
3. Diskussion.....	59
4. Zusammenfassung.....	68
5. Literaturangaben.....	70
Danksagung.....	80
Erklärung.....	81

ECS	extracapsular spread, extrakapsuläres Wachstum
HPV	human papilloma virus, humanes Papillomavirus
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MRND	Modifiziert radikale Neck Dissection
ND	Neck Dissection
pAKT	phosphorylierte Proteinkinase B
pERK	phosphorylierte Extracelluar-signal Regulated Kinases
PIK3CA	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction, Reverse- Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SND	Selektive Neck Dissection
SIN	Squamöse intraepitheliale Neoplasie

1. EINLEITUNG

Das Mundhöhlenkarzinom ist mit circa 10.000 Neuerkrankungen pro Jahr in der Bundesrepublik Deutschland für etwa 5 Prozent aller bösartigen Neubildungen insgesamt verantwortlich. Männer sind deutlich häufiger als Frauen betroffen; hier steht das Mundhöhlenkarzinom an siebter Stelle aller malignen Neuerkrankungen [1, 2]. Trotz kontinuierlicher Verbesserung der therapeutischen Ansatzpunkte liegt das relative 5-Jahresüberleben bei 52% bzw. 63% für Männer, respektive Frauen [3]. Histologisch machen Plattenepithelkarzinome mehr als 90 Prozent aller oralen Neoplasien aus, gefolgt von bösartigen Neubildungen der Speicheldrüsen und weiteren selteneren Entitäten [4].

Ätiologisch spielt neben anderen Faktoren vor allem der chronische Missbrauch von Alkohol und Nikotin in der Mehrzahl der Fälle eine entscheidende Rolle, so wird das relative Risiko an einem Mundhöhlenkarzinom zu erkranken bei einem Substanzmissbrauch um den Faktor sechs erhöht, die Kombination beider Noxen erhöht das Risiko um den Faktor dreißig [4, 6, 7]. Schleimhautveränderungen wie die Leukoplakie stellen prädisponierende Läsionen dar, auf deren Boden Karzinome entstehen können [8, 9]. Die unterschiedliche histologische Graduierung der squamösen intraepithelialen Neoplasien (SIN) anhand der Dysplasiegrade geht ebenfalls mit unterschiedlichen Entartungsrisiken, bei der hochgradigen intraepithelialen Neoplasie von bis zu 90 Prozent, einher [10]. Vor allem bei oropharyngealen Karzinomen, jedoch auch bei Mundhöhlenkarzinomen stellt neben den traditionellen Risikofaktoren, die Infektion mit humanem Papilloma-Virus (HPV 16) einen unabhängigen Risikofaktor dar [11, 12].

In der Therapie des Mundhöhlenkarzinoms ist nach erfolgtem Staging hinsichtlich der Ausdehnung des Primärtumors und dem Vorhandensein etwaiger lokaler

Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen oder Zweitkarzinome im Rahmen einer interdisziplinären onkologischen Fachkonferenz individuell für jeden Patienten das geeignete Therapiekonzept in der Zusammenschau aller Befunde festzulegen. Neben der lokoregionären Tumorfreiheit ist auch die funktionelle und ästhetische Rehabilitation des Patienten vordringliches Ziel der Tumorthherapie. Grundsätzlich wird in der nationalen Leitlinie bei kurativ resektablen Befunden primär die chirurgische Therapie mit einzeitiger Rekonstruktion empfohlen. In Abhängigkeit des endgültigen histopathologischen Ergebnisses wird eine adjuvante Therapie im Sinne einer Strahlentherapie alleine oder in Kombination mit einer Chemotherapie empfohlen [2]. Neben der primären Tumorresektion kommt der chirurgischen Entfernung der Halslymphknoten eine besondere Bedeutung zu. Eine Metastasierung des Primärtumors in die lokalen Lymphknoten verschlechtert die Prognose signifikant. Als besonders ungünstig werden die Anzahl an befallenen Lymphknoten und das

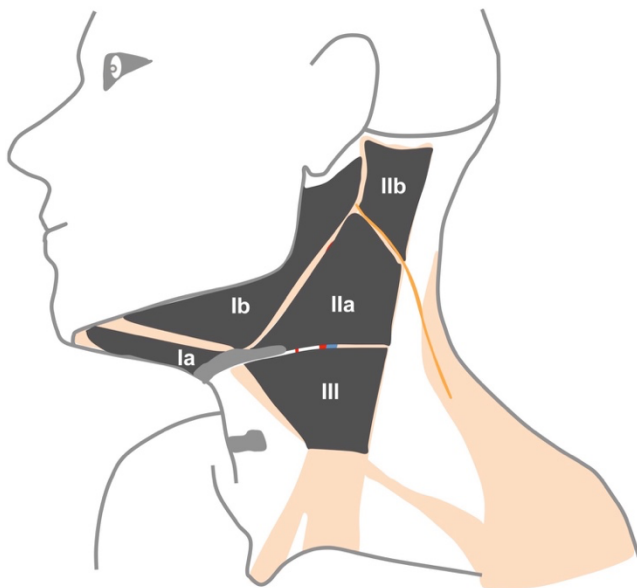


Abbildung 1 Level der ND nach Robbins [5]

Auftreten von extrakapsulärem Wachstum der Lymphknotenmetastasen (extracapsular spread; ECS) gewichtet [13-19].

Die zervikale Lymphadenektomie (Neck Dissection; ND) wurde erstmals in der Mitte des 19. Jahrhunderts von den vier Pionieren der Chirurgie in Europa von Langenbeck (1810-1887), Billroth (1829-1894), von Volkmann

(1830-1889) und Kocher (1841-1917) als Salvage-Operationen beschrieben. Ende des 19. Jahrhunderts wurde die erste radikale *en-bloc* Resektion vom polnischen Chirurgen Jawdynski (1851-1896) als Fallbeschreibung veröffentlicht. Auf Grund der

Tatsache, dass die Publikation auf Polnisch veröffentlicht wurde, gelang erst Crile (1864-1943) aus Cleveland, OH, USA die systematische Beschreibung von 132 erfolgreich durchgeführten ND. Die Operationen wurden allesamt als radikale Neck Dissections (RND) unter Entfernung der Level I-V auf der betroffenen Halsseite und Resektion der nicht lymphatischen Strukturen wie des *musculus sternocleidomastoideus*, *nervus accessorius* und der *vena jugularis interna* durchgeführt. Durch die wegweisenden Arbeiten von Martin (1892-1977) mit der Beschreibung von 1.450 Fällen wurde bis zur zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts die RND als Standardverfahren bei dem Verdacht auf zervikale Lymphknotenmetastasen etabliert [20]. Grundsätzlich wurde die Prozedur aber als therapeutische Operation und nicht im Sinne einer routinemäßigen prophylaktischen Entfernung der Halslymphknoten angesehen. Mit der Etablierung der selektiven Neck Dissection (SND), der Ausräumung bestimmter Level unter Erhalt des *musculus sternocleidomastoideus*, des *nervus accessorius* und der *vena jugularis interna* wurde von Suarez und Bocca etabliert [21]. Die gängige Einteilung der unterschiedlichen anatomischen Einheiten (sog. Level) folgt der Klassifikation von Robbins [5]. Hierbei werden insgesamt sechs Level definiert, von denen für die chirurgische Therapie des Mundhöhlenkarzinoms vor allem die ersten fünf von klinischer Relevanz sind (Abbildung 1). In heutigen Therapieregimen ist die ND ein fester Bestandteil. Hinsichtlich der Nomenklatur werden in der Literatur unterschiedliche Arten der ND beschrieben, die sich vor allem in Hinblick auf das Ausmaß der Resektion und damit die Radikalität unterscheiden. Tabelle 1 fasst die im Folgenden beschriebenen Arten der ND zusammen.

Auch bei einem unauffälligen Staging im Bezug auf das Vorliegen von Halslymphknotenmetastasen (cN0) wird eine SND empfohlen, da histologisch in 20-

Tabelle 1 Arten der ND

Art der Neck Dissection	Ausdehnung
Radikale Neck Dissection (RND)	Ausräumung der Level I-V, Entfernung SAN, IJV, SCM
Modifiziert Radikale Neck Dissection (MRND)	Ausräumung der Level I-V unter Erhalt der nicht-lymphatischen Strukturen (SAN, IJV, SCM)
Selektive Neck Dissection (SND)	Ausräumung von weniger Level als I-IV, i.d.R. Level I-III beim Mundhöhlenkarzinom
Erweitert Radikale Neck Dissection (ERND)	Ausräumung/Entfernung zusätzl. Lymphknotengruppen oder weiterer nicht-lymphatischer Strukturen (e.g. äußere Haut)

Abkürzungen: SAN=Nervus accessories; IJV=Vena jugularis interna; SCM=Musculus sternocleidomastoideus

40 Prozent der Fälle klinisch okkulte Metastasen auftreten [14, 15, 22-29]. Des Weiteren zeigten sich in einem signifikanten Prozentsatz trotz unauffälligem initialen Staging auch ein kapselüberschreitendes Wachstum der Lymphknotenmetastasen [14, 15, 22-27, 29-32]. Die ND wird somit auch als Staging-Operation für die weitere postoperative Therapie verstanden. Auch der Verzicht auf eine prophylaktische ND im Vergleich zur Durchführung nach dem Auftreten von Metastasen als therapeutischer Eingriff im Verlauf des follow-ups zeigt hinsichtlich des Gesamtüberlebens signifikant schlechtere Ergebnisse [26, 33-38].

Mit dem Therapiekonzept der ausschließlichen initialen Beobachtung der lokalen Lymphknoten im Verlauf geht eine bis zu sechsfach erhöhte Inzidenz späterer Lymphknotenmetastasen und ein signifikant verkürztes krankheitsfreies Überleben einher [39-41]. Auch bei einem klinisch unauffälligen Hals wird somit bei einem initialen Mundhöhlenkarzinom die elektive ND empfohlen [2]. Dies wird durch prospektiv-randomisierte Studien gestützt [42, 43]. Hinsichtlich der Ausdehnung und Radikalität der ND konnte schon früh gezeigt werden, dass Lymphknotenmetastasen vor allem in

den Leveln I-III auftreten. In zahlreichen Studien konnte darüber hinaus belegt werden, dass die Durchführung einer MRND der Level I-V oder einer RND im Vergleich zu einer SND der Level I-III bei einem klinischen N0-Hals keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von lokoregionären Rezidiven oder auf das tumorfreie Gesamtüberleben hat [26, 29, 44-50].

In Leveln IV und V zeigten sich in nur ca. 1 Prozent der Fälle lymphogene Filiae [14, 51, 52]. Nicht eindeutig geklärt ist die Rolle von Level IV und IIB. Die standardmäßige Ausräumung von Level IV ist genauso beschrieben, wie den Verzicht der Ausräumung von Level IIB [53-55]. Bei Karzinomen nahe der Mittellinie steigt entsprechend das Risiko für das Auftreten von Lymphknotenmetastasen auf der kontralateralen Halsseite [56, 57]. Keine eindeutige Empfehlung besteht allerdings im Hinblick auf die Erweiterung der ND auf die Level IV und V und nach kontralateral bei dem post- oder intraoperativ im Schnellschnitt erbrachten Nachweis auf eine bestehende Metastasierung bei initialem cN0 Hals [58, 59]. Bei nicht resektablen Metastasen bei einem klinisch und radiologisch auffälligen Befund stellt oft die Radiochemotherapie die einzige Behandlungsoption dar. Dennoch wurden in der Aufarbeitung von Resektaten nach stattgehabter Radiochemotherapie und dem radiologischen Nachweis einer kompletten Remission noch in mehr als 30 Prozent residuelle Tumorzellen gefunden, so dass die primär chirurgische Entfernung in Zusammenschau aller Empfehlungen den Goldstandard darstellt [60-62]. Das Risiko okkulten Metastasen in klinisch unauffälligen Leveln bildet die Grundlage zur Empfehlung einer MRND bei einem primär auffälligen zervikalen Lymphknotenbefund (cN+) [30, 45]. Auch wenn in diesem Zusammenhang bei einer Metastasierung in Level I-III die Rate an Metastasen in den Leveln IV und V mit 7-17 Prozent respektive 0-6 Prozent in der Literatur mit einer großen Spannweite beschrieben werden [32, 52]. Darüberhinaus werden auch sog. Skip Metastasen beschrieben, bei denen eine

Metastasierung in Level V nachgewiesen werden konnte, jedoch ohne, dass Metastasen in Level IV vorlagen [56]. Grundsätzlich steigt das Risiko für eine Metastasierung auch auf der kontralateralen Halsseite mit steigender T-Kategorie, der Anzahl an befallenen Lymphknoten ipsilateral und höherem Grading [63]. Auch wenn hier eine SND kontralateral in Betracht zu ziehen ist, fehlen diesbezüglich noch konkrete Handlungsempfehlungen, die durch aussagekräftige prospektiv-randomisierte Studien gestützt werden [2].

Grundsätzlich bestehen neben operationstechnischen Gefahren und Risiken wie der Verletzung großer Gefäße oder Nerven im Rahmen der ND auch Komplikationen, die auf Grund von stattgehabten Voroperationen oder bereits erfolgter Therapien wie einer Bestrahlung das chirurgische Management erschweren. Ein solch kompromittiertes Wundbett stellt neben dem onkologischen Konzept den Chirurgen vor besondere Herausforderungen [64, 65]. Auf zellulärer und molekularer Ebene sind hier neben der strahleninduzierten Fibrose und daraus folgender Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff auch weitere Signalwege verantwortlich [66-68].

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen zum einen unterschiedliche chirurgische Herangehensweisen, insbesondere hinsichtlich der Radikalität und Sequenz der Halslymphknotenausräumung näher untersucht werden. Es erfolgt die Implementation und Untersuchung einer Einteilung der unterschiedlichen Lymphknotenkompartimente nicht aus rein topographisch-anatomischen Gesichtspunkten - wie in der Klassifikation nach Robbins - sondern nach chirurgisch-operationstechnischen Kriterien. Des Weiteren soll versucht werden, chronische Wundheilungsstörungen nach einer stattgehabten Neck Dissection hinsichtlich der molekularen Grundlagen näher zu untersuchen und die Herausforderung des kompromittierten Wundbetts besser zu verstehen und therapeutische Ansatzpunkte zu definieren.

2. EIGENE ARBEITEN

2.1 Koerdt, S.*, Röckl, J.*, Rommel, N., Mücke, T., Wolff, K.D., Kesting, M.R.

Lymph node management in oral cancer. Analysis of a standardized approach.

Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, August 2016, 1737-1742, 44 (10)

<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.08.002>

* shared first authorship

Die Ausräumung der zervikalen Lymphknotenstationen ist auch bei einem präoperativ klinisch und radiologisch unauffälligen Halsbefund (cN0) für die ersten drei Level nach Robbins heute akzeptierter Goldstandard in der chirurgischen Therapie des primären Mundhöhlenkarzinoms. Auch die Klassifikation der Level nach Robbins ist internationaler Standard [5]. Nichtsdestotrotz ist der klinische Algorithmus hinsichtlich

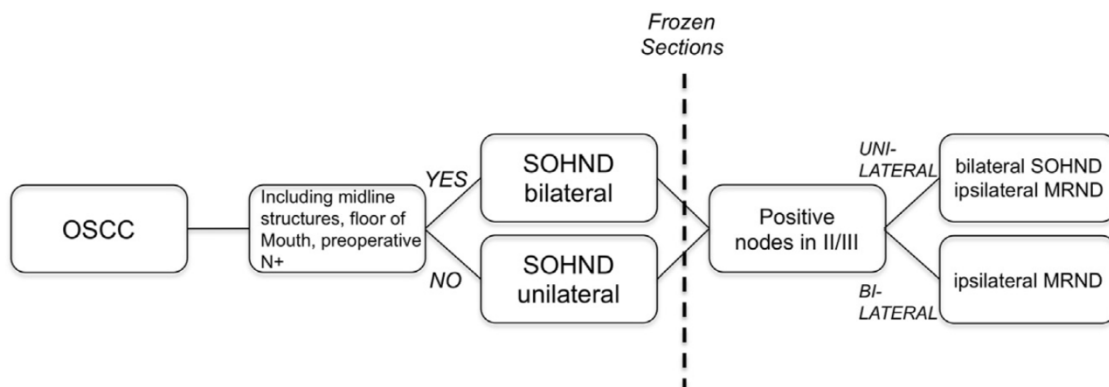


Abbildung 2 Algorithmus des Lymphknotenmanagements

der Ausdehnung der Neck Dissection bei dem Auftreten von Metastasen in den Leveln I-III in die kaudalen Level IV und V und auf die kontralaterale Halsseite nicht geklärt. Eine en-bloc Resektion des Fett-, Lymphknotenpaketes am Hals zeigte der separaten Resektion einzelner Level gegenüber keinen Vorteil [69]. Es wurde eine modifizierte Klassifikation der Level in Abhängigkeit vom Verlauf der Vena jugularis interna in prä-

und postjugulär (Abbildung 3) und ein klinischer Algorithmus hinsichtlich der Ausdehnung und Erweiterung der Halslymphknotenausräumung beim klinischen cN0 Hals (Abbildung 2) untersucht.

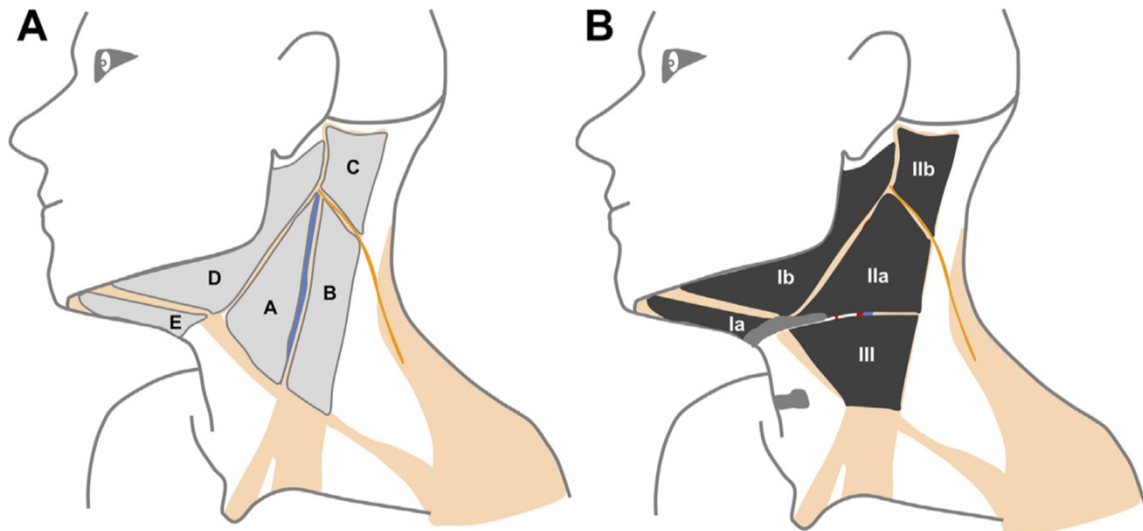


Abbildung 3 Grafische Darstellung der adaptierten Neck Level (A) nach Robbins (B)

In der Zusammenschau der Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass etwa 60 Prozent aller Lymphknotenmetastasen in den Leveln II und III lokalisiert sind. Darüberhinaus fanden sich in etwa 5,4 Prozent aller Fälle Metastasen in Level IIb/C, auch ohne direkte Korrelation zur Lage des Primärtumors, so dass die Ausräumung von Level IIb/C ebenfalls als zwingend erforderlich erscheint. Des Weiteren konnte die Bedeutung des ECS als wichtigem prognostischen Marker unterstrichen werden. Keine Lymphknotenmetastasen wurden initial in der Erweiterung der ND auf die Level IV und V (MRND) gefunden, so dass hier im Rahmen einer follow-up Studie die Rezidivraten und das Langzeitüberleben separat untersucht werden. Insgesamt erscheint die Aufteilung der Level IIa und III in die Kompartimente A und B (Abbildung 3) aus chirurgischer Sicht für eine level-by-level Dissection bei reproduzierbareren anatomischen Grenzen für eine nachvollziehbarere Zuordnung der Lymphknotenmetastasen als sinnvolle Alternative.

2.2 Frohwitter, G., Röckl, J., Rau, A., Wolff, K.-D., Kesting, M. R., **Koerdt, S.**

Evaluation of neck dissection with frozen section biopsy – Management of levels IV and V

Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, November 2019, 1963-1967, 47

<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.11.019>

Eine weitere wichtige Patientengruppe sind die Patienten mit lokal fortgeschrittenen Tumoren, bei denen im initialen Staging bereits der hochgradige Verdacht auf eine zervikale Metastasierung vorliegt (cN+). In die vorliegende Untersuchung wurden nun lediglich Patienten mit einem cN+ Hals eingeschlossen, bei denen bereits initial eine MRND durchgeführt wurde. Eine Metastasierung in Level IV und V konnte in 13,1 Prozent aller Fälle nachgewiesen werden. Kein Einfluss auf eine Metastasierung in Level IV und V konnte hinsichtlich des T-Status, M-Status oder G-Status nachgewiesen werden. Bei einer Metastasierung in Level IV und V befand sich der Tumor jedoch immer im unteren Drittel der Mundhöhle. Kein Einfluss des ECS Status und der Tumorinvasionstiefe konnte auf das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen in Level IV und V gezeigt werden. Ein signifikanter Anteil von „skip“ Metastasen, vor allem bei primären Zungen- und Mundbodenkarzinomen in die Level IV und V konnte nachgewiesen werden. Keiner der Patienten mit Lymphknotenmetastasen in Level IV und V überlebte die Fünf-Jahresgrenze. Diese Patienten verstarben im Mittel in weniger als einem Jahr nach der OP. Die hazard ratio für einen tumorassoziierten Tod bei einem pN+ Befund in Level IV und V verglichen mit pN- in den beiden Leveln lag bei 2,253.

2.3 **Koerdt, S.***, Rohleder, N.H.*, Rommel, N., Nobis, C.P., Stoeckelhuber, M., Wolff, K.D., Kesting, M.R.

An expression analysis of marker proteins of radiation-induced skin fibrosis in wound healing disorders of the head and neck

Radiation Oncology, April 2016, 882-889, 10: 202

<https://doi.org/10.1186/s13014-015-0508-3>

** shared first authorship*

Eine stattgehabte Strahlentherapie, sei es adjuvant auf Grund der Tumorausdehnung, zervikaler Lymphknotenmetastasen, des Resektionsstatus oder als initiale Primärtherapie hat neben kurzfristigen Strahlenfolgen auch Langzeitfolgen. Dies birgt bei einer chirurgischen Intervention in das strahlengeschädigte Gewebe, bei dem Auftreten eines Lokal- oder Lymphknotenrezidivs oder im Zusammenhang mit sekundären Defektrekonstruktionen die immanente Gefahr der Entstehung einer postoperativen Wundheilungsstörung. Das kompromittierte Wundbett stellt neben der onkologischen Situation den Chirurgen vor besondere Herausforderungen. Die strahleninduzierte Fibrose (SIF) repräsentiert diese klinische Komplikation auf zellulärer und molekularer Ebene. Signifikant erhöhte Expressionen von α -Prokollagen und Transforming Growth Factor- β (TGF- β) konnten in Gewebeproben bestrahlter Haut nach Zugang zum Hals sowohl mittels Immunhistochemie wie auch auf molekularer Ebene mittels RT-PCR nachgewiesen werden. Eine erhöhte Expression des von-Willebrand-Faktors als Marker der Angiogenese zeigte sich entsprechend in nicht bestrahltem Gewebe. Diese strukturellen Veränderungen konnten ebenfalls in der Korrelation mit dem Auftreten postoperativer Wundheilungsstörungen nachgewiesen werden.

2.4 **Koerdt, S.***, Steinstraesser, L. *, Stoeckelhuber, M., Rohleder, N.H., Wales, C.J.,

Babaryka, G., Wolff, K.D., Loeffelbein, D.J., Mücke, T., Nieberler, M., Kesting, M.R.

Radiotherapy decreases the cutaneous expression of antimicrobial peptides

Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, April 2016, 882-889, 44 (7)

<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.04.014>

** shared first authorship*

Bei dem Auftreten postoperativer zervikaler Wundheilungsstörungen stellt neben der Lokalthherapie auch die systemische Behandlung mit Antibiotika eine wichtige Säule der Therapie dar. Bakterielle Resistenzen gegen Antibiotika sind eine zunehmende Herausforderung in der Therapie infizierter Wunden. Endogene antimikrobielle Peptide (AMP) zeichnen sich durch ein breites Wirkspektrum aus und fördern die lokale Wundheilung. Die Expression von β -Defensinen-1 (DEFB1, hBD-1), -2 (DEFB4A, hBD-2) und -3 (DEFB103, hBD-3) sowie von Psoriasin (S100A7) zeigten in den untersuchten Proben bestrahlter und nicht bestrahlter Haut zum Teil signifikant verminderte Expressionsmuster in den bestrahlten Proben. In der Immunhistochemie zeigten sich unterschiedliche epitheliale Verteilungsmuster der untersuchten AMP in den zwei Studiengruppen. Erstmals konnte somit der Einfluss einer Strahlentherapie auf die Expression und das Auftreten endogener AMP nachgewiesen werden.

2.5 **Koerdt, S.***, Tanner, N.*, Rohleder, N.H., Rommel, N., Stoeckelhuber, M., Wolff, K.D., Kesting, M.R.

An immunohistochemical study on the role of oxidative and nitrosative stress in irradiated skin

Cells Tissues Organs, Juni 2016, 12-19, 203 (1)

<https://doi.org/10.1159/000447584>

* *shared first authorship*

Bei Untersuchungen zur Rolle von oxidativem und nitrosativem Stress auf die Entstehung von Wundheilungsstörungen nach Zugang zum vorbestrahlten Hals im Speziellen und im Rahmen von Langzeitfolgen einer Strahlentherapie im Allgemeinen, stellen stabile Abbauprodukte wie 3-Nitrotyrosin, 8-Isoprostan, pAKT und pERK etablierte Markerproteine dar, die mit Hilfe der Immunhistochemie quantifizierbar ausgewertet werden können. Ausgelöst durch exogene Noxen, wie eine ionisierende Bestrahlung kommt es, wie hier erstmalig nachgewiesen, zu Veränderungen in der Mikroarchitektur der Haut und zu einer auch statistisch signifikant vermehrten Expression in strahlengeschädigtem Gewebe. Darüber hinaus konnten die exprimierten Proteine in den unterschiedlichen epidermalen und dermalen Schichten mit verschiedenen Expressionsmustern zwischen bestrahltem und nicht bestrahltem Gewebe nachgewiesen werden.

2.6 **Koerdt, S.***, Tanner, N.*, Rommel, N., Rohleder, N.H., Frohwitter, G., Ristow, O.,
Wolff, K.D., Kesting, M.R.

NOS1-, NOS3-, PIK3CA-, and MAPK-pathways in skin following radiation therapy
Biomarker Research, Januar 2017, 5:3

<https://doi.org/10.1186/s40364-017-0084-9>

** shared first authorship*

Zur weiteren Differenzierung postoperativer zervikaler Wundheilungsstörungen nach stattgehabter Radiotherapie wurden im Rahmen dieser Arbeit zum einen die Rolle der Stickstoffsynthetasen (NOS) 1 und 3 auf molekularer Ebene untersucht. Deren Einfluss auf die Wundheilung konnte bereits nachgewiesen werden. Zum anderen wurde die Expression von PIK3CA als durch UV-Strahlung induzierbares Onkogen und dessen Expressionsmuster in bestrahltem Gewebe und nachfolgend in aufgetretenen Wundheilungsstörungen näher untersucht. Der MAP-Kinase Signalweg, mit der Regulation von Matrix Metalloproteinasen (MMP) und dessen Bedeutung bei UV-Strahlung konnte ebenfalls bereits nachgewiesen werden. Der Einfluss ionisierender Strahlung auf die unterschiedlichen Signalkaskaden konnte im Rahmen dieser Arbeit dargestellt werden. Signifikante Mehrexpression von MAPK zeigten sich in vorbestrahltem Gewebe sowie bei postoperativ aufgetretenen Wundheilungsstörungen. NOS-1 und seine Isoform NOS-3 zeigten gegenläufige Expressionsmuster, während für PIK3CA eine signifikante Mehrexpression in bestrahltem Gewebe nachgewiesen werden konnte.

3. DISKUSSION

Die chirurgische Entfernung des Tumors stellt neben der Strahlen- und Strahlenchemotherapie eine der wichtigsten Säulen der onkologischen Therapie dar. Im Rahmen eines chirurgischen Gesamtkonzeptes wird auch eine Adressierung der zervikalen Lymphknoten gefordert. Standardtherapie ist die Neck Dissection (ND). Das Metastasierungsverhalten oraler Plattenepithelkarzinome ist durch das frühzeitige Auftreten von zervikalen Lymphknotenmetastasen charakterisiert, während Fernmetastasen erst in fortgeschrittenen Krankheitsstadien auftreten. Pathophysiologisch beginnt mit der Invasion der Lymphbahnen durch Tumorzellen (*lymphangiosis carcinomatosa*) und die nachfolgende Drainage in die regionalen Lymphknoten der Prozess der Metastasierung. Es folgt die Proliferation in lokalregionalen Lymphknoten und das initiale Ausbilden einer Mikrometastase, die den initialen Staginguntersuchungen oftmals nicht zugänglich sind. Grundsätzlich erfolgt in Abhängigkeit der prätherapeutischen Ausbreitungsdiagnostik die klinisch-radiologische Einteilung der lokoregionären Lymphknoten als unauffällig, suspekt oder hochverdächtig auf das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen. Nichtsdestotrotz finden sich auch Metastasen trotz klinisch und radiologisch als unauffällig gewerteten Lymphknotenbesatz in bis zu 20-30 Prozent in der endgültigen histopathologischen Aufarbeitung der im Rahmen der ND entfernten Lymphknoten. [22, 26, 28]. Neben der Größe und Infiltrationstiefe des Primärtumors ist auch seine Lokalisation ein Prädiktor für das Auftreten sog. okkulten Metastasen [70, 71].

Tabelle 2 fasst hier nach Werner et al. okkulte Metastasierungen und Metastasierungsraten nach Halsseite entsprechend der Lokalisation des Primärtumors zusammen. Grundsätzlich hängt das Muster der Metastasierung neben der

Tabelle 2 Metastasierungsfrequenz von Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich (modifiziert nach Werner 2002)

Primärtumor-Lokalisation	Okkulte Metastasierung [%]	Metastasierungs-rate [%]	Bilaterale Metastasierung [%]
Unterlippe	3-10	7-37	10-25
Gingiva	17-22	18-52	9-15
Bukkoalveolar-komplex	7-25	9-43	7-13
Mundboden	10-31	30-65	8-12
Orale Zunge	20-36	34-75	10-15
Retromolares Dreieck	10-30	32-45	6-12
Weicher Gaumen	22-30	30-68	20-32

Lokalisation des Primärtumors somit im engeren Sinn von der Anatomie des Lymphabflusses ab. Lymphknotenstationen von Mundhöhlenkarzinomen sind in erster Linie demnach Level I oder II und erst später Level III. Ausnahmen stellen hier Karzinome der Zunge dar, die über kollaterale Lymphbahnen einzelne Stationen überspringen und auch kaudalere Level miteinbeziehen können [72]. Die Metastasierung in beide Halsseiten kann bei Karzinomen, die in der Mittellinie lokalisiert sind, auftreten und geht mit einer deutlich schlechteren Prognose einher. Neben der Verteilung der lymphogenen Metastasierung spielt die Primärlokalisierung auch für die Wahrscheinlichkeit und Frequenz des Auftretens von Metastasen eine entscheidende Rolle. So sind Lymphknoten bei Karzinomen der Unterlippe und des Alveolarkamms seltener befallen als bei Tumoren anderer Lokalisationen [72]. Von besonderer Bedeutung scheint hier die Tumordicke bzw. die Invasionstiefe zu sein. Hierbei stellt die Strecke zwischen der Ebene der Basalschicht und der tiefsten gemessenen Tumordinfiltration die Invasionstiefe dar. Unsere Arbeitsgruppe konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Infiltrationstiefe und dem Auftreten von

Lymphknotenmetastasen in einer retrospektiven Auswertung von über 490 Patienten explizit für Zungenkarzinome nachweisen [71]. Die Ausdehnung der Neck Dissection richtet sich neben der grundlegenden kurativen Intention im Gegensatz zur Salvage Neck Dissection nach der Lage des Primärtumors und dem präoperativen Staging. Grundsätzlich besteht der Konsens der Adressierung der zervikalen lokoregionären Lymphknoten sowohl interdisziplinär wie auch über alle chirurgischen Ansätze hinweg. Konkrete operative Konzepte sind jedoch oftmals unterschiedlich. Dies betrifft die Erweiterung der ND ipsilateral auf die kaudalere Strukturen, sprich Level IV und V und die Ausdehnung nach kontralateral beim Auftreten von Lymphknotenmetastasen (N+ Hals), sei es intraoperativ oder in der endgültigen postoperativen histopathologischen Befundaufarbeitung. Die komplette chirurgische Entfernung der bekannten Lymphknotenmetastasen steht als übergeordnetes Ziel der ND der Risikoabwägung der in Tabelle 2 genannten Metastasierungsraten, dem Auftreten okkult oder kontralateraler Metastasen der erhöhten Morbidität gegenüber. Die Frage nach dem Ausmaß der Radikalität der ND und der Standardisierung des klinischen Algorithmus gegebenenfalls unter Zuhilfenahme der schnellschnittpathologischen Befundung sind grundsätzliche Fragestellungen dieser Arbeit.

Zur Klassifizierung hat sich eine anatomische Einteilung nach Level gemäß Robbins international etabliert [5]. Hierbei dient das *os hyoideum* als horizontale Grenze zur Unterteilung der kranio- und mediojugulären Lymphknotengruppen. Diese Differenzierung beruht hierbei mehr auf anatomisch-topographischen Grundlagen als auf operationstechnisch-chirurgischen Einteilungen und Unterscheidungen. In einer Adaptation der von Robbins klassifizierten Lymphknotenkompartimente, die sich im Wesentlichen durch die senkrechte Unterteilung der jugulären Lymphknoten entlang des Verlaufs der *vena jugularis interna* orientiert, soll versucht werden, die level-by-

level Dissection als Staging Prozedur und zur gezielteren Vorbereitung der adjuvanten Radiotherapie zu nutzen.

Die ND stellt in Abhängigkeit der Ausdehnung ein chirurgisch etabliertes Verfahren mit unterschiedlich häufigen Komplikationen und Risiken dar. Bei einer RND wird eine Mortalitätsrate von ca. 1 Prozent beschrieben. Diese erhöht sich nach Angaben aus der Literatur bei einer bilateralen simultanen RND auf bis zu 10 Prozent, wohingegen in diesen heute ausgewählten Fällen ein zweizeitiges Vorgehen empfohlen wird [73]. Häufiger auftretende Komplikationen sind Gefäßverletzungen wie intraoperative Verletzungen großer Gefäße, Thrombenbildung in der *vena jugularis interna*, postoperative Ruptur der *arteria carotis* und Nervenläsionen mit Schädigungen des *nervus accessorius*, *nervus hypoglossus*, *nervus facialis*, *plexus brachialis*, *truncus sympathicus* und des *nervus phrenicus* [74]. Mit der Extension der ND in die Level IV und V kommt es ebenfalls zur Zunahme operativer Komplikationen. Die Resektion des Fett-Lymphknotenpaketes supraclavikulär in Level IV/V vor allem auf der linken Halsseite erhöht die Gefahr einer Schädigung der terminalen Anteile des *ductus thoracicus*. Hier empfiehlt sich die intraoperative Unterbindung des lymphknotenhaltigen Fettgewebes bei der Ausräumung von Level IV/V oder die Verwendung von ultraschallaktivierten Scheren (Ultracision Harmonic Scalpel®, Ethicon). Auch die Präparation des *nervus accessorius* nach dem Austrittspunkt am Hinterrand des *musculus sternocleidomastoideus* durch das laterale Halsdreieck ist bei der Ausräumung von Level IV/V mit einer höheren Komplikationsrate vergesellschaftet. Narbenzüge, Kontrakturen und seltene Komplikationen wie beispielsweise ein persistierender Visusverlust, wie von unserer Arbeitsgruppe beschrieben, treten bei entsprechend verlängerter Operationszeit im Rahmen von ausgedehnteren Ausräumungen entsprechend korrelierend häufiger auf [75]. Neben der gewählten Schnittführung stellt vor allem eine präoperativ durchgeführte

Strahlentherapie eine der Hauptrisiken für die Entstehung von postoperativen Wundheilungsstörungen dar. Bezogen auf alle großen Eingriffe am Hals wird die Inzidenz zur Ausbildung einer Fistel mit bis zu 13 Prozent beschrieben [76]. Eine zuvor stattgehabte Strahlentherapie erhöht dieses Risiko um den Faktor fünf [74]. Eine erhöhte Vulnerabilität der Gefäße beim Präparieren, eine verlangsamte Hämostase infolge einer herabgesetzten Gefäßkontraktion und damit einhergehend das erhöhte Risiko für das Auftreten lokaler Wundinfektionen und Wunddehiszenzen kennzeichnen die Ursachen für Komplikationen nach operativen Eingriffen am vorbestrahlten Hals. Seit der Nutzung der Röntgenstrahlen sind neben den positiven Effekten auch negative Folgen bekannt. Sowohl kurz- als auch langfristige Folgen einer Therapie mit ionisierenden Strahlen auf das menschliche Gewebe beschrieben die Risiken und Folgen einer Strahlentherapie, die als solche dem Patienten keine Schmerzen verursacht. Als akute Strahlenkrankheit bezeichnet man neben dermatologischen Symptomen wie Erthyrema oder Bullae, gastrointestinalen Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen oder Dirarrhoe, auch neurologische Beschwerden und Allgemeinsymptome wie Fieber, Müdigkeit oder Abgeschlagenheit. Langfristige Folgen einer Strahlentherapie sind speziell nach Bestrahlung im Kopf-, Halsbereich z.B. Gewebsfibrose, Xerostomie, Osteoradionekrose der Kiefer und das gesteigerte Risiko strahlenbedingte Zweitkarzinome im weiteren zeitlichen Verlauf zu entwickeln [77, 78]. Auf unterschiedlichen zellulären und molekularen Signalwegen kommt es zu strahlenbedingten Veränderungen, die mit einem kompromittierten Wundbett einhergehen. Eine verminderte Durchblutung, die strahleninduzierte Fibrose der Haut, des Unterhautgewebes und der Gefäße sowie die lokal verminderte Expression antiinfektiver Proteine und die Mehrexpression von freien Radikalen sind Ursache von Infektionen und Dehiszenzen im Bereich der zervikalen Schnittführung. Dies stellt Chirurgen immer wieder vor Herausforderungen, wenn es darum geht, lokale

Wundheilungsstörungen zu therapieren. Auch bei bestmöglich chirurgisch-technischer Herangehensweise, wie der Vermeidung von postoperativen Hämatomen durch sorgfältige Blutstillung, mehrschichtigem plastischem Wundverschluss, der Verwendung von adäquatem Nahtmaterial, längerem Belassen desselbigen, kalkulierter perioperativer antimikrobieller Therapie, entstehen Wundheilungsstörungen, die auf die veränderte Architektur und Mikroarchitektur der Haut zurückzuführen sind. Umso wichtiger erscheint es in diesem Zusammenhang, eine standardisierte und wissenschaftlich fundierte Herangehensweise zum Lymphknotenmanagement zu finden. Sicherlich unkritisch, weil zum einen als allgemein adaptierter Goldstandard im klinischen Alltag bereits angekommen, ist die selektive ND der ipsilateralen Level I-III (SND) bei streng einseitigen Mundhöhlenkarzinomen, bzw. die bilaterale Ausräumung der suprahyoidalen Level bei Tumoren im Bereich der Mittellinie. Des Weiteren ist bei den Patienten mit einem klinisch unauffälligen Stagingbefund und einem kleinen Tumor, bei dem ggf. auf eine mikrochirurgische Rekonstruktion und den zur Gefäßdarstellung verbundenen standardmäßige Zugang zum Hals verzichtet werden kann, die Sentinel-Lymphknotenbiopsie eine aktuell in klinischen Studien untersuchte und für andere Tumorentitäten bereits etablierte Methodik, die eine Reduktion der Invasivität im zervikalen Lymphknotenmanagement propagiert [79, 80]. Auch im historischen Kontext ist die immer wiederkehrende Verringerung der Invasivität, ausgehend von der RND über den Erhalt der essentiellen nicht-lymphatischen Strukturen bei der MRND bis zur Ausräumung lediglich der kranialen Level I-III im Rahmen der SND zumindest für den klinisch als unauffällig gewerteten Hals auch onkologisch immer als gleichwertig betrachtet worden. Hier konnte auch in der Analyse der eigenen Daten keine Notwendigkeit für die Ausdehnung der Lymphknotenausräumung gefunden werden. Uneinheitlicher ist das Vorgehen jedoch für Konstellationen mit bereits

prätherapeutisch klinisch verdächtigen Lymphknoten. Auch wenn hier im eigenen Patientenkollektiv eine Metastasierungsrate in über 10 Prozent in die Level IV und V mit dem Auftreten von Skip Metastasen nachgewiesen werden konnten, ist dennoch die Chirurgie als alleinige Therapiemaßnahme hier sicherlich nicht ausreichend. Eine adjuvante Strahlentherapie auch der kaudal gelegenen Lymphabflusswege konnte die signifikant schlechtere Prognose von Patienten mit Metastasen in den Leveln IV und V nicht relevant verbessern. Keiner dieser Patienten überlebte fünf Jahre nach Diagnosestellung. Auch in der aktuellen nationalen Leitlinie zur Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms findet sich in Ermangelung von prospektiven, randomisiert-kontrollierten Studien keine Aussage zur Notwendigkeit der Ausräumung von Level IV und V sowie dem als unauffällig gewerteten kontralateralen Hals im direkten Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie. Grundsätzlich scheint auch hier das Grundprinzip einer möglichst radikalen chirurgischen Therapie des Primärtumors und der gleichzeitigen Deeskalation der Lymphknotenchirurgie bei Anbindung an ein adjuvantes Therapiekonzept zu greifen. Für eine evidenz-basierte Empfehlung fehlt aber hier die Untermauerung durch eine randomisiert-kontrollierte klinische Studie. Bei Patienten mit einem cN+ Hals und Lymphknotenmetastasen in den Leveln I-III wäre hier vor allem das rezidivfreie Überleben zwischen der Gruppe der ipsilateralen MRND und kontralateralen SND, der ipsilateralen MRND ohne Adressierung der anderen Halsseite und der alleinigen ipsilateralen SND jeweils mit Komplettierung der adjuvanten Radio(chemo-)therapie, je nach histopathologischer Indikationsstellung, als primärer Endpunkt von Interesse. Die Gleichwertigkeit der Studienarme hinsichtlich des primären Endpunktes bei gleichzeitig vermindertem Auftreten postoperativer Komplikationen wäre die zu erwartende Nullhypothese. Die Initiierung einer solchen klinischen Studie mit einem aussagekräftigen Patientenkollektiv könnte das wissenschaftliche Fundament bilden, das sich nach Diskussion der in dieser Arbeit

erhobenen Daten herauskristallisiert. Darüberhinaus stellen uns insbesondere die komplexen und herausfordernden Patientenfälle mit Rezidiven oder Zweitkarzinomen, die bereits eine initiale Therapie abgeschlossen haben und bei denen die Komplikationsrate der chirurgischen Eingriffe am Hals signifikant erhöht ist, vor eine besondere Herausforderung. Auch wenn in einer solchen onkologisch kritischen Situation, in der die Strahlenreserve gegebenenfalls schon ausgereizt ist, die chirurgische Therapie der Halslymphknotenmetastasen die einzig verbliebene kurative Therapieoption darstellt, sollte trotzdem und gerade deswegen die Ausdehnung der ND immer sorgfältig überdacht und trotz der geforderten Standardisierung auch individuell begründet und an den Erfordernissen orientiert werden. Gerade die oftmals zeitintensive und pflegerisch aufwändige Therapie von Dehiszenzen und Wundheilungsstörungen, zum Beispiel nach Erweiterung der Schnittführung zur Ausräumung von Level IV und V im Sinne eine „t-“ oder „z-“ förmigen Zugangs, kann hier auch den Beginn der adjuvanten Therapie verzögern. Nekroseneigung der abgelösten Hautabschnitte und die Blutversorgung des gebildeten Hautlappens sind beeinflussbare Einflussgrößen. Als vorteilhaft hat sich meines Erachtens die umgekehrte hockey-stick Inzision oder der modifizierte Schobinger Zugang etabliert, da hierbei bei der Schnittführung auf dem Vorderrand des *musculus trapezius* auch bei der nicht vorhergesehenen intraoperativen Entfernung des *musculus sternocleidomastoideus* die Narbe nicht direkt auf den großen Halsgefäßen zu liegen kommt und zugleich eine gute Übersicht zur Präparation des *nervus accessorius* durch das laterale Halsdreieck gegeben ist. Grundsätzlich sind vorbestrahlte und voroperierte Patienten allerdings immer mit einem höheren Risiko hinsichtlich des Auftretens von postoperativen Wundheilungsstörungen behaftet. Dies lässt sich auch nur zum Teil beeinflussen. Wie die hier vorgestellten Untersuchungen zeigen konnten sind zelluläre und molekulare Strahlenfolgen ursächlich. Einflussfaktoren auf

unterschiedlichen Ebenen schaffen ein Mikromilieu, das dem Konzept des kompromittierten Wundbettes folgt. Hier lassen sich nur wenige beeinflussbare Faktoren herausstellen. Humane Beta-Defensine, die zur Gruppe der antimikrobiellen Peptide, der körpereigenen Antibiotika gezählt werden, sind in vorbestrahltem Gewebe vermindert exprimiert und sind als exogen synthetisierte Wirkstoffe als Emulsion zur äußeren Anwendung verfügbar. Inwieweit der prophylaktische oder therapeutische Einsatz sinnvoll ist, müsste Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Ein noch gezielterer Einsatz der Strahlentherapie auf die befallenen Level könnte die strahlenbedingten Folgeschäden zumindest verringern, wobei ein konkreter Schwellenwert auch nicht zu ermitteln ist. Eine nachvollziehbare Definition der Lage von Lymphknotenmetastasen ist aber neben der Planung der adjuvanten Radiotherapie auch für die Nachsorge und initiale Operationsplanung von Bedeutung. Hier könnte die vorgestellte Einteilung der Lymphknotenregionen am Hals orientierend an der *vena jugularis interna* anstelle des *hyoids* unter Umständen eine für den Operateur hilfreiche Ergänzung darstellen.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ausräumung der zervikalen Lymphknoten (Neck Dissection, ND) hat sich seit der Erstbeschreibung Ende des 19. Jahrhunderts mit vielen Abwandlungen und Modifikationen heute als bewährtes Standardkonzept in der chirurgischen Therapie des Mundhöhlenkarzinoms etabliert. Leitliniengerecht erfolgt bei primär kurativ therapierbaren Tumorstadien die Empfehlung der Durchführung der ND in Abhängigkeit der Lage des Primärtumors entweder ein- oder beidseitig im Rahmen der Tumoroperation. Die Ausdehnung der ND im Hinblick auf den Umfang der zu entfernenden Lymphknotenregionen (Level) hängt zum einen von der initialen Ausbreitungsdiagnostik ab. Wird im klinischen oder radiologischen Staging der dringende Verdacht auf das Vorliegen einer zervikalen Lymphknotenmetastase gestellt, steht immer auch eine erweiterte Ausräumung der kaudaleren Level ipsilateral und die prophylaktische Adressierung der Gegenseite zur Diskussion. Hier gibt es auch in der aktuellen Version der nationalen Leitlinie keine eindeutige Handlungsempfehlung. Auch wenn das Auftreten von Lymphknotenmetastasen in den kaudalen Regionen (Level IV und V) bei einem primär auffälligem Staging etwa 10 Prozent beträgt, ist die Überlebensprognose dieser Patienten signifikant schlechter. Eine Empfehlung zur Ausräumung von Level IV und V muss bis zur eindeutig evidenzbasierten Aussage auf Grund einer randomisiert kontrollierten Studie zum Vergleich der supraomohyoidalen ND mit adjuvanter Strahlentherapie und der MRND mit adjuvanter Strahlentherapie ausbleiben. Zur fokussierteren Bestrahlung des Lymphabflusses wird eine level-by-level Ausräumung der Lymphknotenkompartimente bevorzugt. Auch die Unterteilung der Level nach chirurgisch-operativen Kriterien und nicht ausschließlich nach topographisch-anatomischen könnte dem onkologischen Chirurgen eine Hilfestellung bieten. Insbesondere Patienten mit einer stattgehabten

Strahlentherapie haben sich klinisch als vulnerable Kohorte herauskristallisiert. Das Auftreten von Infektionen und Wundheilungsstörungen nach Zugang zum Hals und die aufwändige Therapie dieser postoperativen Komplikationen sollte bei der Frage nach Ausweitung der Lymphknotenextirpation berücksichtigt werden. Unterschiedlich hochregulierte zelluläre und molekulare Prozesse und Signalkaskaden wie beispielsweise die Rolle des oxidativen und nitrosativen Stresses, der Einfluss von antimikrobiellen Peptiden sowie der Grad der strahleninduzierten Fibrose konnten in Korrelation zum Auftreten von Wundheilungsstörungen und einer stattgehabten Strahlentherapie als Einflussgrößen beschrieben werden.

5. LITERATURANGABEN

1. Lippman, S.M., et al., *Epidemiology, biology, and chemoprevention of aerodigestive cancer*. *Cancer*, 1994. **74**(9 Suppl): p. 2719-25.
2. Wolff, K.D., et al., *Konsultationsfassung S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms“ AWMF-Register-Nummer (007-100OL)*. 2019, Berlin: Leitlinienprogramm Onkologie der AWMF, Deutschen Krebsgesellschaft e.V. und Deutschen Krebshilfe e.V.
3. Jansen, L., et al., *Mundhöhlen- und Pharynxkarzinome: Inzidenz, Mortalität und Überleben in Deutschland*. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 2021. **64**: p. 941-950.
4. Talamini, R., et al., *Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study*. *Cancer Causes Control*, 2002. **13**(10): p. 957-64.
5. Robbins, K.T., et al., *Neck dissection classification update: revisions proposed by the American Head and Neck Society and the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2002. **128**(7): p. 751-8.
6. Lu, Y., et al., *Cigarette smoking, alcohol drinking, and oral cavity and pharyngeal cancer in the Japanese: a population-based cohort study in Japan*. *Eur J Cancer Prev*, 2018. **27**(2): p. 171-179.
7. Morse, D.E., et al., *Smoking and drinking in relation to oral cancer and oral epithelial dysplasia*. *Cancer Causes Control*, 2007. **18**(9): p. 919-29.
8. van der Waal, I. and C. Scully, *Oral cancer: comprehending the condition, causes, controversies, control and consequences. 4. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa*. *Dent Update*, 2011. **38**(2): p. 138-40.

9. Axell, T., *Hypersensitivity of the oral mucosa: clinics and pathology*. Acta Odontol Scand, 2001. **59**(5): p. 315-9.
10. Macfarlane, G.J., P. Boyle, and C. Scully, *Oral cancer in Scotland: changing incidence and mortality*. BMJ, 1992. **305**(6862): p. 1121-3.
11. Marur, S., et al., *HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic*. Lancet Oncol, 2010. **11**(8): p. 781-9.
12. Jiang, S. and Y. Dong, *Human papillomavirus and oral squamous cell carcinoma: A review of HPV-positive oral squamous cell carcinoma and possible strategies for future*. Curr Probl Cancer, 2017. **41**(5): p. 323-327.
13. Brasilino de Carvalho, M., *Quantitative analysis of the extent of extracapsular invasion and its prognostic significance: a prospective study of 170 cases of carcinoma of the larynx and hypopharynx*. Head Neck, 1998. **20**(1): p. 16-21.
14. Byers, R.M., et al., *Can we detect or predict the presence of occult nodal metastases in patients with squamous carcinoma of the oral tongue?* Head Neck, 1998. **20**(2): p. 138-44.
15. Coatesworth, A.P. and K. MacLennan, *Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: the prevalence of microscopic extracapsular spread and soft tissue deposits in the clinically N0 neck*. Head Neck, 2002. **24**(3): p. 258-61.
16. Greenberg, J.S., et al., *Extent of extracapsular spread: a critical prognosticator in oral tongue cancer*. Cancer, 2003. **97**(6): p. 1464-70.
17. Suoglu, Y., et al., *Extracapsular spread in ipsilateral neck and contralateral neck metastases in laryngeal cancer*. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2002. **111**(5 Pt 1): p. 447-54.
18. Tankere, F., et al., *Prognostic value of lymph node involvement in oral cancers: a study of 137 cases*. Laryngoscope, 2000. **110**(12): p. 2061-5.

19. Woolgar, J.A., et al., *Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread*. *Oral Oncol*, 2003. **39**(2): p. 130-7.
20. Rinaldo, A., A. Ferlito, and C.E. Silver, *Early history of neck dissection*. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2008. **265**(12): p. 1535-8.
21. Ferlito, A. and A. Rinaldo, *Osvaldo Suarez: often-forgotten father of functional neck dissection (in the non-Spanish-speaking literature)*. *Laryngoscope*, 2004. **114**(7): p. 1177-8.
22. Crean, S.J., et al., *Reduction of occult metastatic disease by extension of the supraomohyoid neck dissection to include level IV*. *Head Neck*, 2003. **25**(9): p. 758-62.
23. Hao, S.P. and N.M. Tsang, *The role of supraomohyoid neck dissection in patients of oral cavity carcinoma*. *Oral Oncol*, 2002. **38**(3): p. 309-12.
24. Henick, D.H., et al., *Supraomohyoid neck dissection as a staging procedure for squamous cell carcinomas of the oral cavity and oropharynx*. *Head Neck*, 1995. **17**(2): p. 119-23.
25. Kligerman, J., et al., *Supraomohyoid neck dissection in the treatment of T1/T2 squamous cell carcinoma of oral cavity*. *Am J Surg*, 1994. **168**(5): p. 391-4.
26. McGuirt, W.F., Jr., et al., *Floor of mouth carcinoma. The management of the clinically negative neck*. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1995. **121**(3): p. 278-82.
27. Nieuwenhuis, E.J., et al., *Wait-and-see policy for the N0 neck in early-stage oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma using ultrasonography-guided cytology: is there a role for identification of the sentinel node?* *Head Neck*, 2002. **24**(3): p. 282-9.

28. Smith, G.I., et al., *Management of the neck in patients with T1 and T2 cancer in the mouth*. Br J Oral Maxillofac Surg, 2004. **42**(6): p. 494-500.
29. Spiro, R.H., et al., *Supraomohyoid neck dissection*. Am J Surg, 1996. **172**(6): p. 650-3.
30. Spiro, J.D., et al., *Critical assessment of supraomohyoid neck dissection*. Am J Surg, 1988. **156**(4): p. 286-9.
31. O'Brien, C.J., et al., *The use of clinical criteria alone in the management of the clinically negative neck among patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx*. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2000. **126**(3): p. 360-5.
32. Cole, I. and L. Hughes, *The relationship of cervical lymph node metastases to primary sites of carcinoma of the upper aerodigestive tract: a pathological study*. Aust N Z J Surg, 1997. **67**(12): p. 860-5.
33. Fakhri, A.R., et al., *Elective versus therapeutic neck dissection in early carcinoma of the oral tongue*. Am J Surg, 1989. **158**(4): p. 309-13.
34. Grandi, C., et al., *Salvage surgery of cervical recurrences after neck dissection or radiotherapy*. Head Neck, 1993. **15**(4): p. 292-5.
35. Ho, C.M., et al., *Treatment of neck nodes in oral cancer*. Surg Oncol, 1992. **1**(1): p. 73-8.
36. Lydiatt, D.D., et al., *Treatment of stage I and II oral tongue cancer*. Head Neck, 1993. **15**(4): p. 308-12.
37. van den Brekel, M.W., J.A. Castelijns, and G.B. Snow, *Diagnostic evaluation of the neck*. Otolaryngol Clin North Am, 1998. **31**(4): p. 601-20.

38. Vandenbrouck, C., et al., *Elective versus therapeutic radical neck dissection in epidermoid carcinoma of the oral cavity: results of a randomized clinical trial.* Cancer, 1980. **46**(2): p. 386-90.
39. Altieri, A., et al., *Cessation of smoking and drinking and the risk of laryngeal cancer.* Br J Cancer, 2002. **87**(11): p. 1227-9.
40. Huang, S.F., et al., *Neck treatment of patients with early stage oral tongue cancer: comparison between observation, supraomohyoid dissection, and extended dissection.* Cancer, 2008. **112**(5): p. 1066-75.
41. D'Cruz, A.K., et al., *Elective neck dissection for the management of the N0 neck in early cancer of the oral tongue: need for a randomized controlled trial.* Head Neck, 2009. **31**(5): p. 618-24.
42. D'Cruz, A.K., et al., *Elective versus Therapeutic Neck Dissection in Node-Negative Oral Cancer.* N Engl J Med, 2015. **373**(6): p. 521-9.
43. Yuen, A.P., et al., *Prospective randomized study of selective neck dissection versus observation for N0 neck of early tongue carcinoma.* Head Neck, 2009. **31**(6): p. 765-72.
44. Manni, J.J. and F.J. van den Hoogen, *Supraomohyoid neck dissection with frozen section biopsy as a staging procedure in the clinically node-negative neck in carcinoma of the oral cavity.* Am J Surg, 1991. **162**(4): p. 373-6.
45. Bier, J., *Radical neck dissection versus conservative neck dissection for squamous cell carcinoma of the oral cavity.* Recent Results Cancer Res, 1994. **134**: p. 57-62.
46. Bocca, E., et al., *Functional neck dissection: an evaluation and review of 843 cases.* Laryngoscope, 1984. **94**(7): p. 942-5.
47. Byers, R.M., *Modified neck dissection. A study of 967 cases from 1970 to 1980.* Am J Surg, 1985. **150**(4): p. 414-21.

48. Leon, X., et al., *Selective dissection of levels II-III with intraoperative control of the upper and middle jugular nodes: a therapeutic option for the N0 neck*. Head Neck, 2001. **23**(6): p. 441-6.
49. Spiro, R.H., O. Gallo, and J.P. Shah, *Selective jugular node dissection in patients with squamous carcinoma of the larynx or pharynx*. Am J Surg, 1993. **166**(4): p. 399-402.
50. Yu, S., et al., *Efficacy of supraomohyoid neck dissection in patients with oral squamous cell carcinoma and negative neck*. Am J Surg, 2006. **191**(1): p. 94-9.
51. Jin, W.L., et al., *Occult cervical lymph node metastases in 100 consecutive patients with cN0 tongue cancer*. Chin Med J (Engl), 2008. **121**(19): p. 1871-4.
52. Shah, J.P., *Patterns of cervical lymph node metastasis from squamous carcinomas of the upper aerodigestive tract*. Am J Surg, 1990. **160**(4): p. 405-9.
53. Byers, R.M., et al., *Frequency and therapeutic implications of "skip metastases" in the neck from squamous carcinoma of the oral tongue*. Head Neck, 1997. **19**(1): p. 14-9.
54. Corlette, T.H., et al., *Neck dissection of level IIb: is it really necessary?* Laryngoscope, 2005. **115**(9): p. 1624-6.
55. Elsheikh, M.N., M.E. Mahfouz, and E. Elsheikh, *Level IIb lymph nodes metastasis in elective supraomohyoid neck dissection for oral cavity squamous cell carcinoma: a molecular-based study*. Laryngoscope, 2005. **115**(9): p. 1636-40.
56. De Zinis, L.O., et al., *Prevalence and localization of nodal metastases in squamous cell carcinoma of the oral cavity: role and extension of neck dissection*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2006. **263**(12): p. 1131-5.

57. Kowalski, L.P., et al., *Factors influencing contralateral lymph node metastasis from oral carcinoma*. Head Neck, 1999. **21**(2): p. 104-10.
58. Frohwitter, G., et al., *Evaluation of neck dissection with frozen section biopsy - Management of levels IV and V*. J Craniomaxillofac Surg, 2019. **47**(12): p. 1963-1967.
59. Koerdt, S., et al., *Lymph node management in the treatment of oral cancer: Analysis of a standardized approach*. J Craniomaxillofac Surg, 2016. **44**(10): p. 1737-1742.
60. Brizel, D.M., et al., *Necessity for adjuvant neck dissection in setting of concurrent chemoradiation for advanced head-and-neck cancer*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004. **58**(5): p. 1418-23.
61. Frank, D.K., et al., *Planned neck dissection after concomitant radiochemotherapy for advanced head and neck cancer*. Laryngoscope, 2005. **115**(6): p. 1015-20.
62. Wang, S.J., et al., *Combined radiotherapy with planned neck dissection for small head and neck cancers with advanced cervical metastases*. Laryngoscope, 2000. **110**(11): p. 1794-7.
63. Koo, B.S., et al., *Management of contralateral N0 neck in pyriform sinus carcinoma*. Laryngoscope, 2006. **116**(7): p. 1268-72.
64. Koerdt, S., et al., *An expression analysis of markers of radiation-induced skin fibrosis and angiogenesis in wound healing disorders of the head and neck*. Radiat Oncol, 2015. **10**: p. 202.
65. Rohleder, N.H., et al., *Can tissue spectrophotometry and laser Doppler flowmetry help to identify patients at risk for wound healing disorders after neck dissection?* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2014. **117**(3): p. 302-11.

66. Koerdt, S., et al., *Radiotherapy for oral cancer decreases the cutaneous expression of host defence peptides*. J Craniomaxillofac Surg, 2016. **44**(7): p. 882-9.
67. Koerdt, S., et al., *NOS1-, NOS3-, PIK3CA-, and MAPK-pathways in skin following radiation therapy*. Biomark Res, 2017. **5**: p. 3.
68. Koerdt, S., et al., *An Immunohistochemical Study on the Role of Oxidative and Nitrosative Stress in Irradiated Skin*. Cells Tissues Organs, 2017. **203**(1): p. 12-19.
69. Upile, T., et al., *How we do it: a method of neck dissection for histopathological analysis*. BMC Surg, 2007. **7**: p. 21.
70. Werner, J.A., *Richtung und Ausmaß der lymphogenen Metastasierung, in Lymphknotenerkrankungen im Kopf-Hals-Bereich. Onkologie und Differentialdiagnose*, J.A. Werner, Editor. 2002, Springer: Heidelberg. p. 171-181.
71. Mucke, T., et al., *Tumor thickness and risk of lymph node metastasis in patients with squamous cell carcinoma of the tongue*. Oral Oncol, 2016. **53**: p. 80-4.
72. Woolgar, J.A., *Histological distribution of cervical lymph node metastases from intraoral/oropharyngeal squamous cell carcinomas*. Br J Oral Maxillofac Surg, 1999. **37**(3): p. 175-80.
73. Razack, M.S., R. Baffi, and K. Sako, *Bilateral radical neck dissection*. Cancer, 1981. **47**(1): p. 197-9.
74. Werner, J.A., *Komplikationen der Neck dissection, in Lymphknotenerkrankungen im Kopf-Hals-Bereich. Onkologie und Differentialdiagnose*, J.A. Werner, Editor. 2002, Springer: Heidelberg. p. 171-181.

75. Krasnikova, A., et al., *Blindness following bilateral neck dissection. A case report and review of the literature*. Int J Surg Case Rep, 2020.
76. Brown, H., S. Burns, and C.W. Kaiser, *The spinal accessory nerve plexus, the trapezius muscle, and shoulder stabilization after radical neck cancer surgery*. Ann Surg, 1988. **208**(5): p. 654-61.
77. Lara, P.C., et al., *Radiation-induced differentiation of human skin fibroblasts: relationship with cell survival and collagen production*. Int J Radiat Biol, 1996. **70**(6): p. 683-92.
78. Thorn, J.J., et al., *Osteoradionecrosis of the jaws: clinical characteristics and relation to the field of irradiation*. J Oral Maxillofac Surg, 2000. **58**(10): p. 1088-93; discussion 1093-5.
79. Alvarez Amezaga, J., et al., *Diagnostic efficacy of sentinel node biopsy in oral squamous cell carcinoma. Cohort study and meta-analysis*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2007. **12**(3): p. E235-43.
80. Ross, G.L., et al., *Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial*. Ann Surg Oncol, 2004. **11**(7): p. 690-6.

ERKLÄRUNG

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

Hiermit erkläre ich, dass

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

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....
Datum

.....
Unterschrift