

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

Die Aussagekraft des Tumormarkers MIA beim malignen
Melanom im Stadium III

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von Andreas Wolfgang Fritsch
aus Kassel

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med U. Trefzer
2. Prof. Dr. med. A. Pezzutto
3. Prof. Dr. med. E. Späth-Schwalbe

Datum der Promotion: 20.11.2009

In Dankbarkeit meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
2	Grundlagen	8
2.1	Definition und Klassifikation des malignen Melanoms	8
2.1.1	Definition des malignen Melanoms	8
2.1.2	Klassifikation des malignen Melanoms	8
2.1.2.1	Superfiziell spreitendes Melanom (SSM)	9
2.1.2.2	Noduläres Melanom (NM)	10
2.1.2.3	Lentigo-maligna Melanom (LMM)	10
2.1.2.4	Akral-lentiginöses Melanom (ALM)	11
2.2	Epidemiologie und Ätiologie des malignen Melanoms	13
2.2.1	Epidemiologie	13
2.2.2	Ätiologie und Risikofaktoren	15
2.3	Diagnostik des malignen Melanoms	15
2.3.1	Morphologie	15
2.3.2	Dermatoskopie	16
2.3.3	Histologie	16
2.4	Prognostische Parameter und Stadien	17
2.4.1	Prognostische Parameter und Metastasierung	17
2.4.2	Stadieneinteilung	20
2.5	Tumormarker	23
2.5.1	Definition eines Tumormarkers	23
2.5.2	Der Tumormarker MIA	23
2.5.3	Andere Tumormarker des malignen Melanoms	26
2.5.3.1	S-100- β	26
2.5.3.2	Tyrosinase-PCR	27
2.5.3.3	Laktatdehydrogenase (LDH)	28
2.5.3.4	5-S-Cysteinylidopa (5-S-CD)	28
2.5.3.5	Neuronen-spezifische Enolase (NSE)	28
2.5.3.6	Lipid-bound sialic acid (LASA-P)	29
2.6	Therapie des malignen Melanoms	29
2.6.1	Operative Therapie	29
2.6.2	Palliative Therapien	30
2.6.2.1	Strahlentherapie	30
2.6.2.2	Chemotherapie	31
2.6.2.3	Adjuvante Therapie	31
2.7	Melanomnachsorge	32
3	Ziel der Studie	34
4	Material und Methoden	35
4.1	Bestimmung des MIA-Wertes mittels ELISA	35
4.1.1	Entnahme, Lagerung und Aufarbeitung der Proben	35
4.2	Patienten	36
4.3	Statistische Methoden	37
5	Ergebnisse	39
5.1	Die gesunde Kontrollgruppe	39
5.2	Das Patientenkollektiv	40
5.2.1	Altersverteilung und Geschlechterverteilung	40
5.2.2	Verteilungen nach Art des Melanoms	41

5.2.3	Verteilungen nach Lokalisation des Melanoms	42
5.2.4	Der Clark-Level	45
5.2.5	Die Eindringtiefe nach Breslow	46
5.2.6	Verteilung der MIA-Werte in der Patientengruppe	48
5.2.7	Cut-off-Berechnungen mit der Vergleichsgruppe	50
5.2.8	Sensitivität und Spezifität von MIA im Stadium III	50
5.2.9	Auftreten des ersten Rezidivs	53
5.2.10	Die Korrelation von MIA mit Lymphknotenmetastasen	54
5.2.11	MIA versus LDH	56
5.2.12	Überlebenszeit	59
5.2.13	Zusammenhang der Überlebenszeit mit MIA	61
6	Diskussion	63
7	Zusammenfassung	71
8	Abkürzungsverzeichnis	73
9	Abbildungsverzeichnis	75
10	Tabellenverzeichnis	77
11	Literatur	78
12	Tabellarischer Lebenslauf	88
13	Erklärung	89
14	Danksagung	90

1 Einleitung

Das maligne Melanom hat in den vergangenen Jahrzehnten signifikant an Häufigkeit zugenommen. War der ‚schwarze Hautkrebs‘ bis Mitte des letzten Jahrhunderts ein relativ seltener Tumor, so liegt die Häufigkeit heute weitaus höher. Lag das Lebenszeitrisiko an einem Melanom zu erkranken im Jahre 1935 noch bei 1:1500, ist es bis zum Jahre 2000 auf 1:75 angestiegen. ⁽¹⁾

Dieser Trend der stetig steigenden Inzidenz setzt sich auch in jüngerer Zeit fort. Von 1980 bis heute haben sich die Melanomerkrankungen mehr als verdreifacht. Jährlich erkranken in Deutschland etwa 14.900 Menschen an diesem Malignom der Haut, das für 1% der Krebstodesfälle in Deutschland verantwortlich ist. ⁽²⁾

Die Erkrankungsquote ist bei Frauen mit ca. 8.400 Melanomen pro Jahr (4,1% aller bösartigen Neubildungen) wesentlich höher als bei Männern. Hier macht das maligne Melanom mit ca. 6.500 Fällen pro Jahr 2,8% aller bösartigen Neubildungen aus. ⁽²⁾

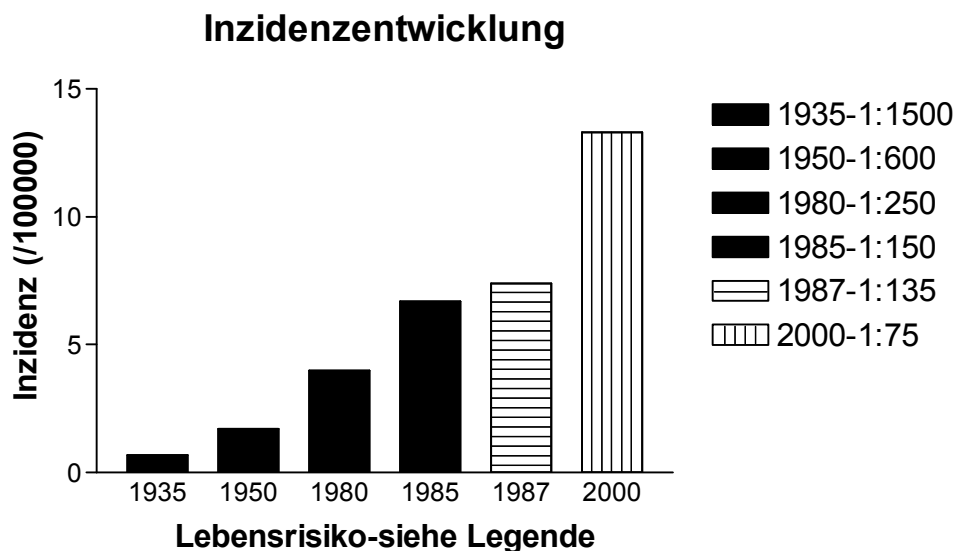


Abbildung 1: Vergangenes und derzeitiges Lebenszeitrisiko der Entwicklung eines malignen Melanoms für einen in den USA lebenden Menschen. ⁽¹⁾

Eine Erklärung für diese Entwicklung ist schwierig und vielschichtig. Doch aufgrund der Inzidenzentwicklung ist es dringend notwendig, diesem bösartigen und frühzeitig metastasierenden Malignom weiterhin größte Aufmerksamkeit zukommen zu lassen. Man beobachtet seit Jahren eine Abnahme der Häufigkeit ‚dicker‘ Melanome (Eindringtiefe in mm nach Breslow) und gleichzeitig eine Zunahme der ‚dünnen‘ Melanome ^(2,3),

was wahrscheinlich auf die kontinuierliche Aufklärung und die daraus resultierenden ‚früheren‘ Arztbesuche mit früherer Diagnosestellung zurückzuführen ist. Aber obwohl heute gehäuft maligne Melanome in prognostisch günstigeren Stadien diagnostiziert werden, ist bei der Sterblichkeitsrate seit den 1970er Jahren keine wesentliche Veränderung zu beobachten. (2)

Daher sind die Intensivierung der Frühdiagnostik von pigmentierten Hautveränderungen sowie die Erarbeitung und Optimierung von zuverlässigen Stagingmethoden weiterhin wichtige klinische Ziele. So wird, wie auch bei anderen malignen Tumoren, an verschiedenen Tumormarkern für das maligne Melanom intensiv geforscht.

In dieser Promotionsarbeit soll an einem Patientenkollektiv der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité der Nutzen des Tumormarkers MIA zur Tumordiagnostik, Nachsorge und als Verlaufsparemeter der Therapie bei Patienten mit malignem Melanom im Tumorstadium III untersucht werden.

2 Grundlagen

2.1 Definition und Klassifikation des malignen Melanoms

2.1.1 Definition des malignen Melanoms

Das Melanom ist ein maligner Tumor der Haut. ⁽⁴⁾ In über 90% der Fälle geht er als Primärtumor von den Melanozyten der basalen Epidermisschichten aus. Des Weiteren können Melanome aus Pigmentzellen der Dermis, der Uvea, der Schleimhäute, der Leptomeningen, der Retina, der Cochlea, dem vestibulären Labyrinth des inneren Ohres sowie des Gastrointestinaltrakts entstehen. Melanome breiten sich nach ihrem Entstehen aus Melanozyten oder Nävuszellen zunächst entlang der dermoepidermalen Junktionszone aus. Dies nennt man die „horizontale Wachstumsphase“. Abhängig von der Aggressivität und somit dem Typ des Melanoms, geht dieser zunächst flächig wachsende Tumor nach Wochen oder erst nach Jahren in die „vertikale Wachstumsphase“ mit knotigen Tumoranteilen über. In dieser Phase durchbricht das Melanom die Basalmembran, kann metastasieren, was unbehandelt zum Tode führen kann. ⁽⁴⁾ Eine frühe Metastasierung erklärt sich dadurch, dass Melanozyten, auch wenn sie entartet sind, nicht in Zellverbänden wachsen und keine Interzellularbrücken bilden. Sie trennen sich nach der Zellteilung und verteilen sich im umliegenden Gewebe. ⁽⁵⁾

2.1.2 Klassifikation des malignen Melanoms

1969 entwickelten Clark et al. Unterscheidungskriterien für das maligne Melanom. Es lässt sich danach in vier klinisch-histologische Subtypen aufteilen, von denen es noch einige Sonderformen gibt. Unterschieden werden das superfiziell spreitende Melanom (SSM), das noduläre Melanom (NM), das lentigo-maligna Melanom (LMM) und das akral-lentiginöse Melanom (ALM). ⁽⁶⁾

Davon abweichende Typen stellen Sonderformen oder Mischformen dar. Beispiele dafür sind amelanotische Melanome sowie Schleimhautmelanome oder andere extrakutane Melanome. Diese Sonderformen machen etwa 5% aller Melanome aus. ⁽⁷⁾

Typ	Abkürzung	Prozentualer Anteil	Medianes Alter
Superfiziell spreitendes Melanom	SSM	57,4 %	51 Jahre
Noduläres Melanom	NM	21,4 %	56 Jahre
Lentigo-maligna Melanom	LMM	8,8 %	68 Jahre
Akral-lentiginöses Melanom	ALM	4,0 %	63 Jahre
Nicht klassifizierbares Melanom	UCM	3,5 %	54 Jahre
Sonstige		4,9 %	54 Jahre

Tabelle 1: Verteilung klinisch-histologischer Subtypen kutaner maligner Melanome im deutschsprachigen Raum. (7)

2.1.2.1 Superfiziell spreitendes Melanom (SSM)

Das superfiziell spreitende Melanom ist mit 57,4% der häufigste Typ. (7) Die bevorzugte Lokalisation ist der Rumpf, bei Frauen auch der Unterschenkel. (1) Das mediane Alter der Patienten liegt bei 51 Jahren. (3)

Das SSM imponiert klinisch als unregelmäßig pigmentierte, unscharf und polyzyklisch begrenzte Macula oder Plaque. Häufig finden sich depigmentierte (Regressionszonen) und knotige Areale. Sie weisen auf ein bereits begonnenes vertikales (invasives) Wachstum hin. (1)



Abbildung 2: Superfiziell spreitendes Melanom
(Patientenbild aus der Klinik für Dermatologie der Charité)

2.1.2.2 Noduläres Melanom (NM)

Das knotige oder noduläre Melanom ist der aggressivste Melanomtyp. ⁽⁴⁾ Es macht 21,4% aller Melanome aus. ⁽⁷⁾ Am häufigsten tritt es an Brust, Rücken und den Extremitäten auf. ⁽⁵⁾ Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 56 Jahren. ⁽⁷⁾

Klinisch imponiert es meist als regelmäßiger dunkelbrauner, selten rosa- oder hautfarbener (amelanotisch) Knoten ohne Randsaum. Häufig besitzt es eine erodierte Oberfläche. Sein Wachstum erfolgt fast ohne horizontale Wuchsphase primär in vertikaler Richtung. Dadurch metastasiert es schneller als die übrigen Melanome. Aufgrund der frühen Metastasierung und der meist späten Diagnosestellung hat es von allen Melanomen die schlechteste Prognose. ⁽¹⁾



Abbildung 3: Noduläres Melanom
(Patientenbild aus der Klinik für Dermatologie der Charité)

2.1.2.3 Lentigo-maligna Melanom (LMM)

Das lentigo-maligna Melanom macht 8,8% der Melanome aus. Das mediane Alter der Patienten liegt hier mit 68 Jahren deutlich höher als bei den anderen Melanomtypen. ⁽⁷⁾ Seine Prädispositionsstellen sind alle Areale chronischer Lichtexposition. Bis zu 70% der lentigo-maligna Melanome treten im Gesicht und am Kopf auf. ⁽³⁾ Klinisch sieht man erst eine große, unregelmäßige, unscharf begrenzte Macula. Diese Lentigo maligna verweilt lange, oft mehr als 20 Jahre, in der horizontalen Wachstumsphase. Wenn die Tumorzellen ins Korium eindringen, entwickelt sich meist ein papulöser Anteil und die

Lentigo maligna wird zum lentigo-maligna Melanom. Aufgrund der langen horizontalen Wachstumsphase und des höheren Erkrankungsalters hat das LMM eine günstigere Prognose als die übrigen Melanome. (1)



Abbildung 4: Lentigo-maligna Melanom
(Patientenbild aus der Klinik für Dermatologie der Charité)

2.1.2.4 Akral-lentiginöses Melanom (ALM)

Das akral-lentiginöse Melanom bildet in der kaukasischen Bevölkerung 4% aller malignen Melanome. Sein medianes Alter liegt bei 63 Jahren. (7) Lokalisiert ist es an Hautarealen ohne Haarfollikel. Histologisch entspricht es einem Melanom vom superfiziell spreitenden oder nodulären Typ. Da oft spät diagnostiziert, hat es insgesamt eine schlechte Prognose. (1)

In Gebieten in denen die Haut der Bevölkerung eine höhere Pigmentierung als bei Kaukasiern aufweist (z. B. Afrika oder Asien) ist das ALM der häufigste Melanomtyp. (8) Makroskopisch ähnelt das ALM häufig dem LMM. Man sieht unscharf begrenzte Maculae in Farbschattierungen von hellbraun bis schwarz. Knotige Veränderungen findet man vor allem in den dunkleren Anteilen, die – je nach Lokalisation – durch mechanische Belastung zu Blutungen neigen. (5)



Abbildung 5: Akral-lentiginöses Melanom
(Patientenbild aus der Klinik für Dermatologie der Charité)

2.2 Epidemiologie und Ätiologie des malignen Melanoms

2.2.1 Epidemiologie

Sowohl international als auch national gibt es große Unterschiede in den Inzidenzen des malignen Melanoms. So liegt die Anzahl der Neuerkrankungen zwischen 38,5 (pro 100.000 Einwohner) bei Männern in Australien und 0,3 (pro 100.000 Einwohner) bei Frauen in Japan. ⁽²⁾

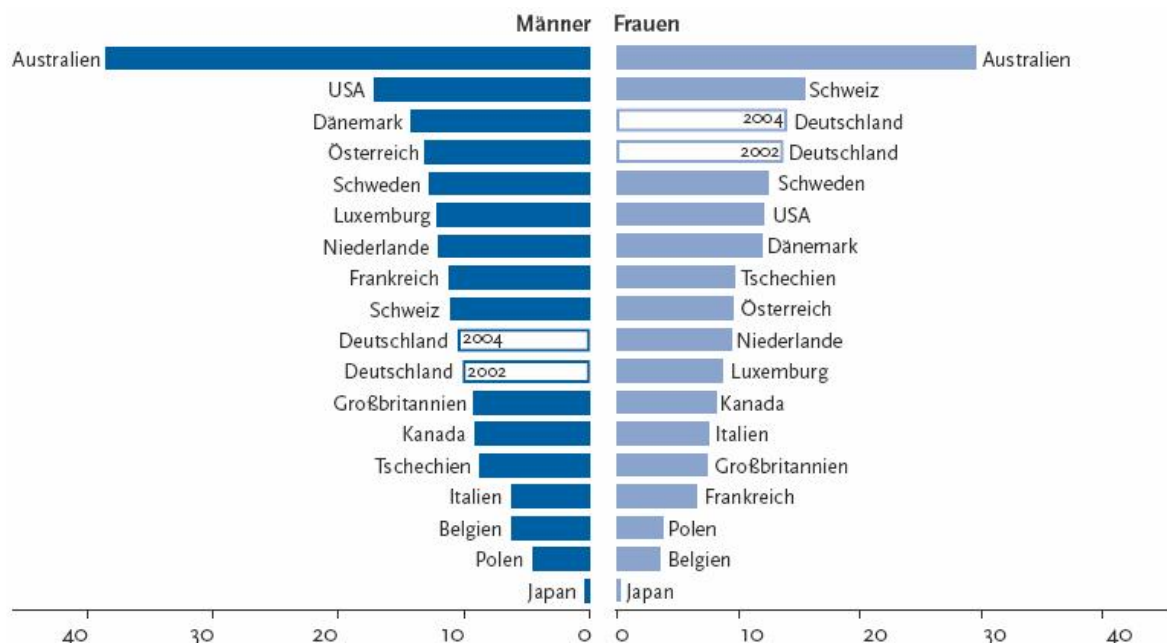


Abbildung 6: Neuerkrankungsraten in Deutschland 2002 und 2004 nach RKI-Schätzungen 1980 – 2002 und 1980 – 2004 im internationalen Vergleich, altersstandardisierte Neuerkrankungen pro 100.000. ⁽²⁾

Auch europaweit und selbst auf Ebene der Bundesländer Deutschlands gibt es gewisse Unterschiede. So liegt hier Schleswig Holstein mit 24 Erkrankungen (pro 100.000 Einwohner) an der Spitze. Am wenigsten maligne Melanome gibt es in Berlin und Brandenburg mit 11,3 Melanomen pro 100.000 Einwohner. ⁽²⁾

Unbestritten ist jedoch, dass das maligne Melanom einer der Tumoren mit der weltweit am schnellsten zunehmenden Inzidenz ist.

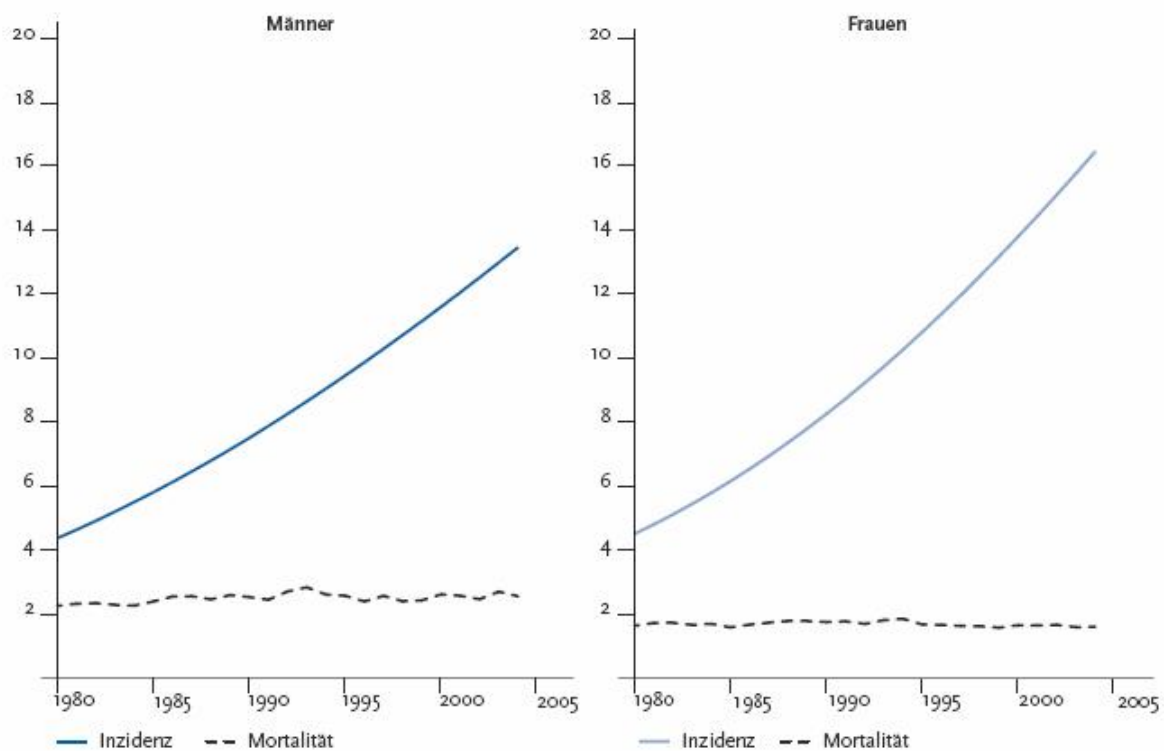


Abbildung 7: Altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität des malignen Melanoms in Deutschland 1980 – 2004, Fälle pro 100.000. ⁽²⁾

Der Median der Altersverteilung der Melanompatienten liegt bei 53,5 Jahren, aber auch jüngere Patienten sind zu einem beträchtlichen Teil betroffen, wie die folgende Grafik verdeutlicht:

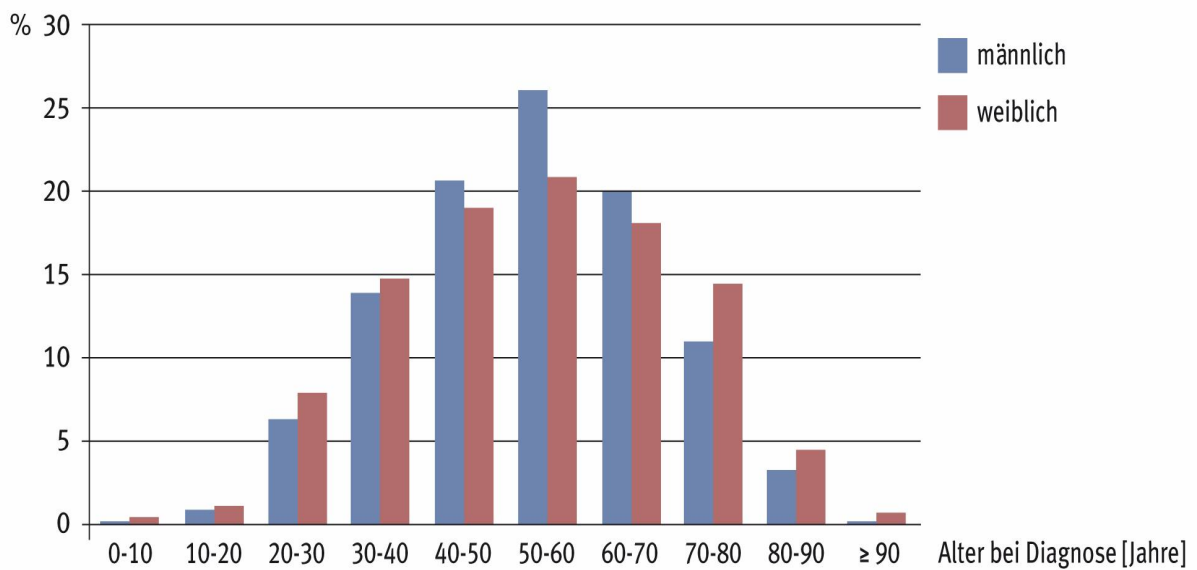


Abbildung 8: Altersverteilung nach Geschlecht ⁽³⁾

2.2.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Ätiologie des malignen Melanoms ist noch nicht abschließend geklärt. Bekannt ist, dass zwei Drittel aller Melanome de novo entstehen und sich ein Drittel der Melanome auf vorbestehenden Nävi entwickelt.

Risikofaktoren für die Entwicklung von Melanomen sind: Hautlichttyp I + II, exzessive Lichtexposition bis zum 20. Lebensjahr mit Sonnenbränden, genetische Disposition, Anzahl der melanozytären Nävi (>50) und atypische melanozytäre Nävi. (1)

Signifikante Risikofaktoren		Adjustiertes relatives Risiko
Gewöhnliche melanozytäre Naevi	> 100 versus < 10	7,6
Atypische melanozytäre Naevi	> 5 versus keine	6,1
Aktinische Lentiginen	Viele versus keine	3,4
Haarfarbe	Rot versus braun/schwarz	3,5
Hauttyp	I+II versus III+IV	1,4
Naevuswachstum	Ja versus nein	2,3

Tabelle 2: Signifikante morphologische Risikofaktoren (3)

2.3 Diagnostik des malignen Melanoms

2.3.1 Morphologie

Die morphologischen Kriterien zur Erkennung des Frühmelanoms werden in der sog. ABCDE-Regel zusammengefasst. Dabei stehen die Buchstaben für die folgenden Merkmale:

- A Asymmetry / Asymmetrie (asymmetrische Form, nicht spiegelbar)
- B Border / Begrenzung (unregelmäßiger, polyzyklischer Rand mit unscharfer Begrenzung)
- C Color / Farbe (unterschiedliche Pigmentierung)
- D Diameter / Durchmesser (> 5 mm)
- E Elevation / Erhabenheit (cave: In-situ-Melanome und ALM sind selten erhaben)

Zusätzlich sind Symptome wie Juckreiz, Blutungen und Ulzerationen stets melanomverdächtig, treten aber meist erst in späteren Stadien auf. (1)

2.3.2 Dermatoskopie

Mit dem Delta-10-Dermatoskop (Heine Optotechnik nach Braun-Falco, Bilek, Stolz) wurde die Auflichtmikroskopie weiterentwickelt. Es entstand ein Gerät, das aufgrund seines geringen Gewichtes und seiner einfachen Handhabung hervorragend für den klinischen Alltag geeignet ist. Es erlaubt die 10fache Vergrößerung der Hautveränderung und den Blick in die tiefer liegenden Strukturen der Haut. ⁽⁹⁾ So können auch Farbtöne und Strukturelemente verifiziert und ihr histologisches Korrelat angegeben werden. Bei der ABCDE-Regel der Dermatoskopie werden für Ausprägungen dieser dermatoskopischen Kriterien Punktwerte vergeben, aus denen sich eine Gesamtpunktzahl errechnen lässt. Diese gibt einen Anhaltspunkt über die Dignität der Hautveränderung. ⁽¹⁰⁾

2.3.3 Histologie

In vielen Fällen ist die Abgrenzung eines Nävuszellnävus oder gar eines dysplastischen Nävus von einem Melanom problematisch, weshalb die histologische Aufarbeitung der wesentlichste Bestandteil der Diagnosesicherung ist.

Beurteilt werden sollten:

- die Dignität
- der Melanomtyp
- die Tumordicke nach Breslow
- der Clark-Level
- die Resektionsränder

Entscheidende histologische Kriterien, die für ein malignes Melanom sprechen, sind:

Architektonischer Aufbau:

- Asymmetrie
- Unscharfe Begrenzung
- Melanozytennester in der Epidermis mit unregelmäßigen Abständen, unterschiedlicher Größe
- Einzelstehende Melanozyten in suprabasalen Zellschichten der Epidermis

- Konfluierende Nester
- Melanozytenproliferation entlang der Adnexepithelien
- Melanozyten in den obersten Epidermislagen
- Ungleichmäßige Melaninverteilung innerhalb der Epidermis-
adnexen und Dermis
- Ungleichmäßige Verteilung lymphozytären Infiltrates
- Kohäsive Melanozytenverbände im Korium

Zytomorphologie:

- Polymorphie und Atypie der Melanozyten
- Mitosen melanozytärer Zellen
- Keine Ausreifung der Melanozyten an der Tumorbasis (^{11, 12})

2.4 Prognostische Parameter und Stadien

2.4.1 Prognostische Parameter und Metastasierung

Zur Prognoseeinschätzung und zur Durchführung einer stadiengerechten Therapie und Nachsorge sind bei jedem Patienten eine Abschätzung der Tumorausbreitung und eine Einordnung entsprechend einer Klassifikation erforderlich.

Ein guter Anhalt für die Prognose des Tumors ist die vertikale Tumordicke nach Breslow:

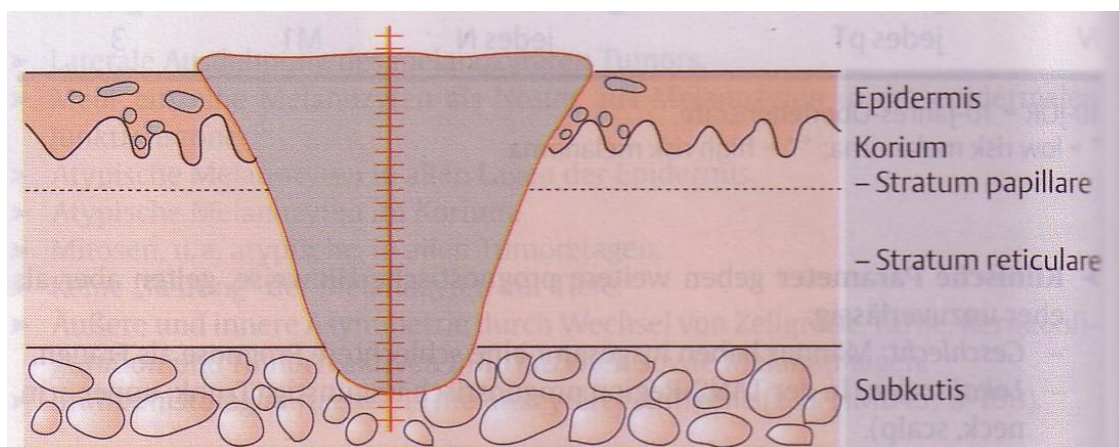


Abbildung 9: Tumordicke nach Breslow (¹)

Eine weitere Tumorklassifikation ist die histologische Tiefeninvasion nach Clark:

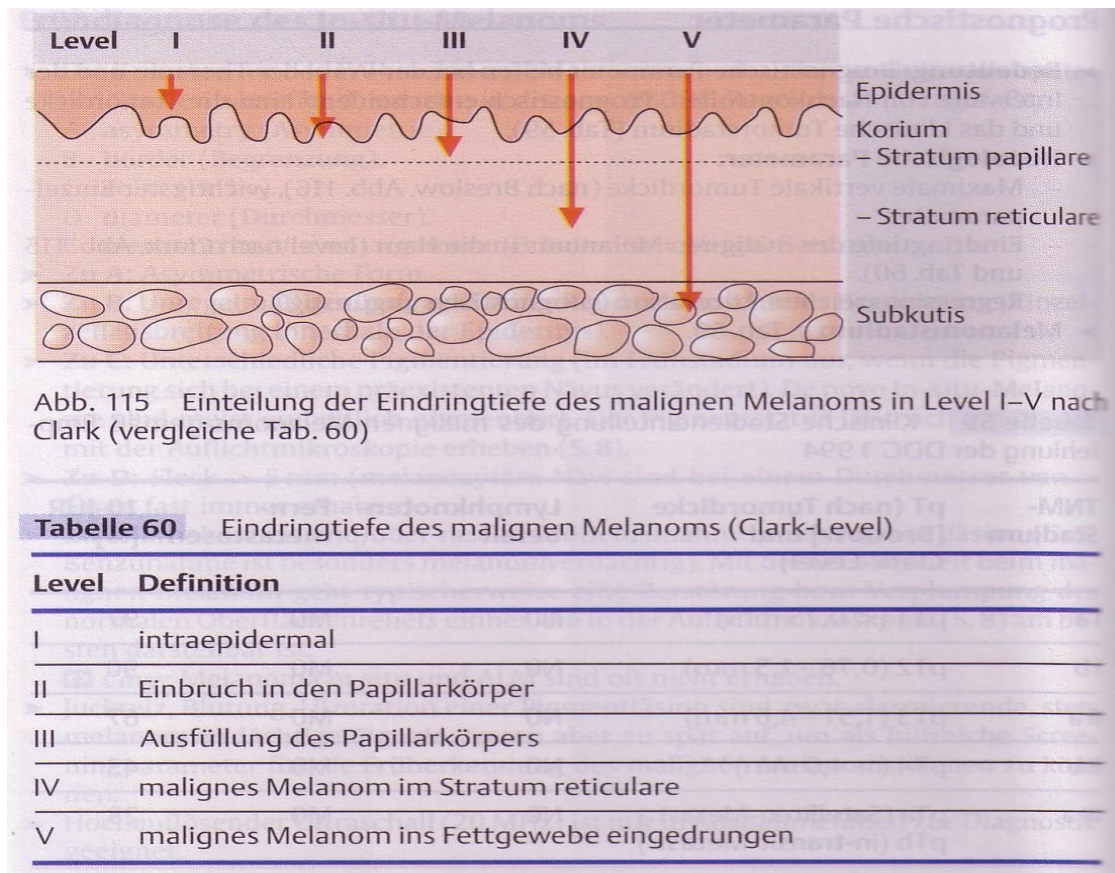


Abbildung 10: Clark-Level (¹)

Ungefähr 90% der Melanome werden heutzutage bei der Erstdiagnose als Primärtumoren ohne erkennbare Metastasierung eingestuft.

Die wichtigsten prognostischen Parameter bei malignen Melanomen ohne primäre Metastasierung sind:

- Die histologische Eindringtiefe nach Breslow (in mm)
- Eine Ulzeration des Tumors in der Histologie [diese führt in der Klassifikation des American Joint Committee on Cancer (AJCC) von 2002 zur Gruppierung ins nächsthöhere Stadium]
- Der Invasionslevel nach Clark
- Der Melanomsubtyp im histologischen Präparat
- Mikrometastasierung im Wächterlymphknoten (Sentinel)
- Das Geschlecht (schlechtere Prognose für Männer)

- Die Lokalisation (ungünstigere Prognose für oberen Stamm, obere Extremitäten, Hals und Kopf) (^{1, 7, 13})

Tumordicke nach Breslow	10-Jahres-Überlebensrate (10-JÜR)
≤ 1,0 mm	88 - 95 %
1,01 – 2,0 mm	79 – 84 %
2,01 – 4,0 mm	64 - 73 %
> 4,0 mm	52 - 54%

Anmerkung: Diese Werte gelten für Tumoren ohne Ulzeration.

Tabelle 3: Tumorspezifische 10-Jahres-Überlebensrate (10-JÜR) in Abhängigkeit von der vertikalen Tumordicke nach Breslow. (⁷)

Das maligne Melanom kann sowohl primär lymphogen als auch primär hämatogen metastasieren. In den meisten Fällen (ca. zwei Drittel) findet sich die erste Metastase jedoch im regionären Lymphabflussgebiet. Verschiedene Metastasenarten werden unterschieden:

- Satelliten-Metastasen (bis 2 cm um den Primärtumor)
- Lokale Rezidive nach Resektion des Tumors mit ungenügendem Sicherheitsabstand
- In-transit-Metastasen (mehr als 2 cm vom Tumor entfernt, aber vor der nächsten Lymphknotenstation)
- Regionäre Lymphknotenmetastasen
- Fernmetastasen

Die 10-Jahres-Überlebensrate verringert sich in dieser Liste von oben nach unten. Während sie bei In-transit-Metastasen noch bei 30-50% liegt, ist die Überlebenswahrscheinlichkeit bei Fernmetastasen gering und liegt durchschnittlich bei unter einem Jahr. (⁷)

2.4.2 Stadieneinteilung

Zur Festlegung der Tumorausbreitung sind viele verschiedene Klassifikationen in Gebrauch. Das American Joint Committee on Cancer (AJCC) veröffentlichte 1977 erstmalig eine Klassifikation unter Berücksichtigung des Mikrostaging nach den grundlegenden Arbeiten von Clark (1969) und Breslow (1970). In Europa wurde das Melanom nach der TNM-Klassifikation der UICC (Union International Contre le Cancer) klassifiziert. Die TNM-Klassifikation richtet sich nach der anatomischen und histologischen Ausdehnung der Erkrankung.

Im Folgenden wird die Stadieneinteilung nach dem TNM-System tabellarisch abgebildet:

pTX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden	
pT0	kein Primärtumor	
pTis	Melanoma in situ (Clark-Level I): atypische Melanozytenhyperplasie, schwere Melanozytendysplasie, keine invasive maligne Läsion	
pT1	Tumor nicht dicker als 0,75 mm und mit Infiltration des Stratum papillare (Clark-Level II)	
pT2	Tumor hat eine Dicke von mehr als 0,75 mm, aber nicht mehr als 1,5 mm und/oder infiltriert bis zur Grenze zwischen Stratum papillare und Stratum reticulare (Clark-Level III)	
pT3	Tumor hat eine Dicke von mehr als 1,5 mm, aber nicht mehr als 4,0 mm und/oder infiltriert das Stratum reticulare (Clark-Level IV)	
	pT3a	Tumordicke mehr als 1,5 mm, aber nicht mehr als 3,0 mm
	pT3b	Tumordicke mehr als 3,0 mm, aber nicht mehr als 4,0 mm
pT4	Tumor hat eine Dicke von mehr als 4,0 mm und/oder infiltriert in die Subkutis (Clark-Level V) und/oder Satellit(en) innerhalb 2 cm vom Primärtumor	
	pT4a	Tumordicke mehr als 4,0 mm und/oder Infiltration der Subkutis (Clark-Level V)
	pT4b	Satellit(en) innerhalb 2 cm vom Primärtumor

Anmerkung: Bei Diskrepanzen zwischen Tumordicke und Level richtet sich die pT-Kategorie nach dem jeweils ungünstigeren Befund.

Tabelle 4: pT – Primärtumor

NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden	
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen	
N1	Metastase(n) 3 cm oder weniger in größter Ausdehnung in irgendeinem regionären Lymphknoten	
N2	Metastase(n) mehr als 3 cm in größter Ausdehnung in irgendeinem regionären Lymphknoten und/oder In-transit-Metastase(n)	
	N2a	Metastase(n) mehr als 3 cm in größter Ausdehnung
	N2b	In-transit-Metastase(n)
	N2c	Metastase(n) mehr als 3 cm in größter Ausdehnung und In-transit-Metastase(n)

Tabelle 5: N - Regionäre Lymphknoten

MX	Das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden	
M0	Keine Fernmetastasen	
M1	Fernmetastasen	
	M1a	Befall von Haut, Subkutis oder Lymphknoten jenseits der regionären Lymphknoten
	M1b	Viszerale Metastasen

Tabelle 6: M – Fernmetastasen

Daraus ergibt sich folgende Stadiengruppierung:

Stadium I	pT1	N0	M0
	pT2	N0	M0
Stadium II	pT3	N0	M0
Stadium III	pT4	N0	M0
	jedes pT	N1, N2	M0
Stadium IV	jedes pT	jedes N	M1

Tabelle 7: Zusammenfassung TNM-System

(Tabellen 4,5,6,7: Stadieneinteilung nach dem TNM-System / UICC 1997) ⁽¹⁴⁾

Da das im Rahmen dieser Dissertation untersuchte Patientenkollektiv zeitlich weit zurückreicht und die Ulzeration eines Tumors nicht in das Staging mit eingegangen ist, musste zur Stadieneinteilung auf die Stagingtabelle der AJCC von 1997 zurückgegriffen werden.

Für das maligne Melanom wurde von der AJCC 2002 eine neue TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung vorgeschlagen, die auch von der UICC akzeptiert worden ist.

Stadium	Primärtumor (pT)	Regionäre Lymphknoten-Metastasen (N)	Fernmetastasen (M)
0	In-situ-Tumoren	Keine	Keine
IA	≤ 1,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IB	≤ 1,0 mm mit Ulzeration oder Clark Level IV oder V	Keine	Keine
	1,01–2,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIA	1,01–2,0 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
	2,01–4,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIB	2,01–4,0 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
	> 4,01 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIC	> 4,01 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
IIIA	Jede Tumordicke, keine Ulzeration	Mikrometastasen	Keine
IIIB	Jede Tumordicke mit Ulzeration	Mikrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke, keine Ulzeration	Bis zu drei Makrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke ± Ulzeration	Keine, aber Satelliten- und/oder In-transit-Metastasen	Keine
IIIC	Jede Tumordicke mit Ulzeration	Bis zu drei Makrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke ± Ulzeration	Vier oder mehr Makrometastasen oder kapselüberschreitender Lymphknotenbefall oder Satelliten- und/oder In-transit-Metastasen mit Lymphknotenbefall	Keine
IV			Fernmetastasen

Tabelle 8: Stadieneinteilung AJCC 2002 (⁷)

2.5 Tumormarker

2.5.1 Definition eines Tumormarkers

Als Tumormarker werden im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten zirkulierende Makromoleküle bezeichnet, die bei einer Entstehung oder dem Wachstum von malignen Tumoren anfallen oder ihre Konzentration ändern. Ideal sind Tumormarker, die erst nach der malignen Transformation der jeweiligen Zelle sezerniert werden und möglichst tumor- oder zellspezifisch sind. Auch das direkte Erkennen von Tumorzellen ist möglich und kann ein guter Tumormarker sein, wobei die Methode zur Gewinnung solcher Parameter meist sehr aufwendig und damit teuer ist. ⁽³⁾ Der ideale Tumormarker wäre ein Parameter, der durch zirkulierende Tumorzellen oder durch einen vom Tumor sezernierten Stoff den Nachweis einer „minimal residual disease“ liefert. Damit könnte er zur Frühdiagnostik eines sich entwickelnden Rezidivs oder als Therapiemonitor eingesetzt werden. Außerhalb von experimentellen und klinischen Studien gab es für das maligne Melanom bisher keinen Tumormarker. Seit einiger Zeit stehen nun kommerziell erhältliche Marker wie S-100- β und MIA zu Verfügung. Auch die Tyrosinase-PCR (Polymerase chain reaction) wird als experimenteller Prognosefaktor eingesetzt. ⁽³⁾

2.5.2 Der Tumormarker MIA

Der Tumormarker MIA (melanoma inhibitory activity) ist ein Protein, das erstmals im Zellüberstand der Melanomzelllinie HTZ-19d nachgewiesen wurde. Diese wurde aus einer Hirnmetastase eines malignen Melanoms gewonnen. Die Arbeitsgruppe um Bogdahn erbrachte zuerst diesen Nachweis. ^(15, 16)

MIA wird von Melanomzellen in den Extrazellularraum sezerniert. Das Protein ist 11kDa klein und besteht aus 107 Aminosäuren. 1994 konnte durch PCR und Phagenscreen die komplementäre DNS von MIA gewonnen werden. ⁽¹⁶⁾

1 CCA GCA CCC CCT TGC TCA CTC TCT TGC TCA CAG TCC ACG ATG GCC CGG

1 Met Ala Arg

49 TCC CTG GTG TGC CTT GGT GTC ATC ATC TTG CTG TCT GCC TTC TCC GGA

4 Ser Leu Val Cys Leu Gly Val Ile Ile Leu Leu Ser Ala Phe Ser Gly

97 CTT GGT GTC AGG GGT GGT CCT ATG CCC AAG CTG GCT GAC CGG AAG CTG

20 Pro Gly Val Arg Gly Gly Pro Met Pro Lys Leu Ala Asp Arg Lys Leu

145 TGT GCG GAC CAG GAG TGC AGC CAC CCT ATC TCC ATG GCT GTG GCC CTT

36 Cys Ala Asp Gln glu Cys Ser His Pro Ile Ser Met Ala Val Ala Leu

193 CAG GAC TAC ATG GCC CCC GAC TGC CGA TTC CTG ACC ATT CAC CGG GGC

52 Gln Asp Tyr Met Ala Pro Asp Cys Arg Phe Leu Thr Ile His Arg Gly

241 CAA GTG GTG TAT GTC TTC TCC AAG CTG AAG GGC CGT GGG CGG CTC TTC

68 Gln Val Val Tyr Val Phe Ser Lys Leu Lys Gly Arg Gly Arg Leu Phe

289 TGG GGA GGC AGC GTT CAG GGA GAT TAC TAT GGA GAT CTG GCT GCT CGC

84 Trp Gly Gly Ser Val Gln Gly Asp Tyr Tyr Gly Asp Leu Ala Ala Arg

337 CTG GGC TAT TTC CCC AGT AGC ATT GTC CGA GAG GAC CAG ACC CTA AAA

100 Leu Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Ile Val Arg Glu Asp Gln Thr Leu Lys

385 CCT GGC AAA GTC GAT GTG AAG ACA GAC AAA TGG GAT TTC TAC TGC CAG

116 Pro Gly Lys Val Asp Val Lys Thr Asp Lys Trp Asp Phe Tyr Cys Gln

433 TGA GCT CAG CCT ACC GCT GGC CCT GCC

132 End

Abbildung 11: Komplementäre DNS-Sequenz des humanen MIA-Proteins ⁽¹⁶⁾

Soweit man bislang weiß, kann das Protein MIA die Zelladhäsion beeinflussen, so dass sich Tumorzellen leichter aus dem Zellverband lösen können. Dadurch ist es in der Lage, die Metastasierung von Melanomen zu fördern, indem es die Beweglichkeit der Zellen erhöht. ⁽³⁾

MIA interagiert mit Integrin alpha4beta1 und alpha5beta1. Das führt dazu, dass die Aktivität von Integrin herunterreguliert wird. Dadurch werden auch die Bindungsstellen von Zelloberflächenmolekülen maskiert und somit die Bindung an die extrazelluläre Matrix erschwert. Dies verhindert die Bindung an die umgebenden Matrixproteine.

^(17, 18, 19, 20)

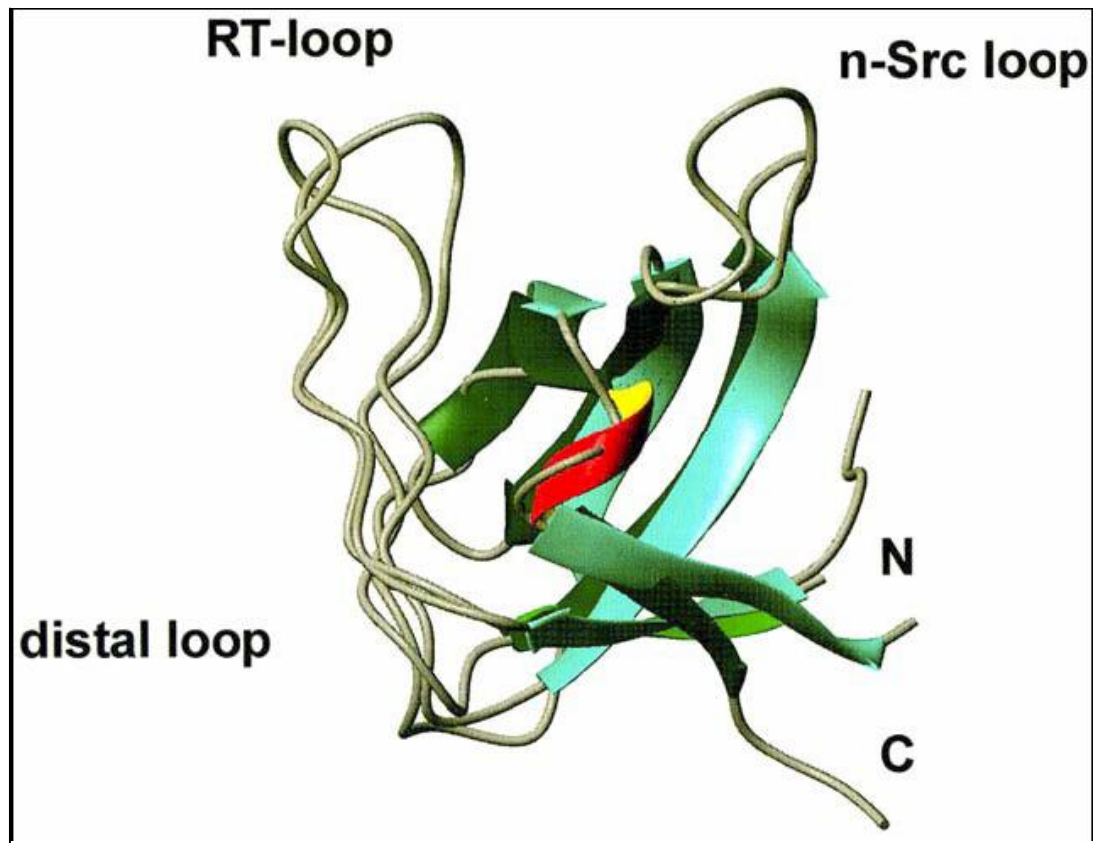


Abbildung 12: Dreidimensionale Struktur des Proteins MIA
Schematische Darstellung der bisher bekannten Wirkungsweise von MIA zwischen Zellen und den Makromolekülen der extrazellulären Matrix. ⁽¹⁶⁾

Neuere tierexperimentelle Studien belegten zusätzlich die Möglichkeit, durch eine forcierte Expression von MIA das Metastasierungspotential des Tumors zu steigern, ohne dass die Wachstumsrate des Primärtumors oder die Apoptose davon beeinflusst werden. ^(21, 22)

Im Normalgewebe kommt MIA nur in differenzierten Knorpelzellen vor, ⁽²³⁾ nicht jedoch in Melanozyten, Fibroblasten oder Keratinozyten. Im Gegensatz dazu wird MIA sehr stark von Melanomzellen und Melanomzelllinien exprimiert. Das bedeutet eine starke Expression von MIA in melanozytären Tumoren. ^(19, 24)

Da MIA ein sezerniertes Protein ist, wurde in nachfolgenden Studien untersucht, ob es sich im Serum von Patienten, die an einem Melanom erkrankt sind, nachweisen lässt und ob sich MIA als Tumormarker eignet. ⁽²⁵⁾ Die Ergebnisse sind eindeutig. Man stellte mittels eines nicht-radioaktiven ELISAs (Enzym-Linked Immunosorbent Assay) fest, dass 94% der Patienten mit metastasierten malignen Melanomen im Stadium III und IV

erhöhte MIA-Werte aufwiesen (den oberen Normalwert hatte man bei dieser ersten Studie auf 4,5 ng/ml festgelegt). Es erwies sich, dass MIA im Serum von Melanompatienten mit Metastasen durchaus ein diagnostisch relevanter Parameter ist. Der ELISA wurde neu standardisiert und der Cut-off (Grenzwert) wurde auf 8,8 ng/ml gelegt (97. Perzentile). ⁽²⁶⁾

Mittlerweile gab es eine Reihe von Studien, welche MIA im Zusammenhang mit anderen Malignomen untersuchten. Bei der Untersuchung von Zellen von Magenkarzinomen konnte gezeigt werden, dass Zellen mit MIA Expression ein dreimal so invasives Wachstum aufwiesen, wie Zellen ohne MIA Expression. In diesen Fällen wurde auch eine Prognoseverschlechterung deutlich. ⁽²⁷⁾ Auch beim Pankreaskarzinom konnte gezeigt werden, dass MIA das Potential hat, das invasive Wachstum der Tumorzellen zu erhöhen. ⁽²⁸⁾

Ebenso wurden bei Patientinnen in fortgeschrittenen Stadien von Brustkrebs (Adenokarzinome) erhöhte MIA-Werte nachgewiesen. ⁽²⁹⁾

In einer Studie über MIA in Zusammenhang mit Gliomen fand man MIA im Tumorgewebe, aber nicht im Blut der Patienten. Bei näherer Untersuchung zeigte sich das überraschende Ergebnis, dass die MIA Expression hier umgekehrt proportional zur Tumorprogression war. D.h., je weniger MIA die Tumorzellen in sich trugen, desto schneller war die Tumorerkrankung fortgeschritten. ⁽³⁰⁾

In experimentellen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass MIA die Aktivität von Integrin hemmt und somit die Metastasierung fördert. Das bedeutet aber auch, dass eine Hemmung der MIA-Aktivität ein neuer therapeutischer Ansatz sein könnte, metastasierte Melanome zu behandeln. ⁽²⁰⁾

2.5.3 Andere Tumormarker des malignen Melanoms

2.5.3.1 S-100- β

Heute sind mindestens 17 S-100-Proteine bekannt. Sie sind eine Gruppe von sauren Proteinen die Kalzium binden und somit eine Rolle bei der intrazellulären Botenfunktion des Kalziums spielen. ⁽³¹⁾ Vor den Versuchen, S-100 als Serummarker für maligne Melanome einzusetzen, war es schon seit längerem als immunhistopathologischer

Marker zur Identifizierung maligner Melanome bekannt. Für die Melanomdiagnostik hat sich das S-100- β -Protein durchgesetzt (S-100 mit β -Kette, 21kDa).

Die Bestimmung erfolgte zunächst immunradiometrisch, aber auch für diesen Marker stehen mittlerweile kommerzielle Testsysteme zur Verfügung, welche die S-100- β -Konzentration immunluminometrisch messen. S-100- β bildet Dimere, die entweder ein $\beta\beta$ -Homodimer oder ein $\alpha\beta$ -Heterodimer sind. S-100 Proteine werden von einer Vielzahl von Zellen in verschiedenen Gewebearten (neuroektoderm, mesoderm und ektoderm) exprimiert. Aber auch S-100- β kommt nicht nur in Melanomen vor. Das $\beta\beta$ -Dimer wird hauptsächlich in Gliazellen und Schwannzellen des Zentralen Nervensystems gefunden, die $\alpha\beta$ -Form in Gliazellen und Melanomen. Die β -Untereinheit korreliert in Melanomen positiv mit dem Tiefenwachstum des Tumors. ⁽³²⁾ Es wurde in einer Vielzahl von Studien untersucht, ob S-100- β ein brauchbarer Tumormarker für das maligne Melanom ist und in welchen Tumorstadien seine Aussagekraft am höchsten ist.

Im Wesentlichen stimmten folgende Aussagen überein:

- Bei Patienten im Stadium I und II sind die S-100- β -Werte nicht signifikant erhöht ^(33, 34)
- S-100- β eignet sich nicht zu Detektion von Mikrometastasen ⁽³⁵⁾
- S-100- β -Serumspiegel korrelieren mit Haut- und Fernmetastasen ^(34, 36, 37, 38)
- S-100- β kann die Progression der Erkrankung widerspiegeln ^(39, 40)
- S-100- β korreliert mit der Prognose des Überlebens ^(34, 40, 41,)

2.5.3.2 Tyrosinase-PCR

Im Jahre 1991 gelang es zum ersten Mal, mit Hilfe der RT-PCR (reverse Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion) zirkulierende Melanomzellen im Blut von Melanompatienten nachzuweisen. Hierbei wird RNA isoliert und mittels RT-PCR melanozyten-spezifisch exprimierte mRNA amplifiziert und so das Vorhandensein von Melanomzellen im Blut nachgewiesen. ⁽⁴²⁾ Tyrosinase ist das Schlüsselenzym der Melaninbiosynthese, das spezifisch für Melanozyten und Melanomzellen ist. Tyrosinase katalysiert die ersten beiden Schritte der Melaninbiosynthese: die Hydroxilierung von Tyrosin zu Dopa und die anschließende Oxidation zu Dopachinon. ^(43, 44, 45)

Obwohl zu diesem Verfahren viele Studien gemacht wurden und immer noch gemacht werden, sind die Daten nach wie vor sehr kontrovers. So variierte bei Melanompatienten-

ten mit einer Fernmetastasierung die Anzahl der im Serum Tyrosinase positiven Patienten zwischen 0% ⁽⁴⁶⁾ und 100%. ⁽⁴⁷⁾ Es gab sogar in ein und derselben Studie widersprüchliche Ergebnisse. ⁽⁴⁸⁾

2.5.3.3 Laktatdehydrogenase (LDH)

Die Laktatdehydrogenase ist ein Enzym, welches in nahezu jeder Zelle des menschlichen Körpers gelöst im Zytoplasma vorliegt. Es ist im Stoffwechsel für die Oxidation von Laktat zu Pyruvat und umgekehrt zuständig. Als klinischer Laborparameter zeigt es eine Gewebsschädigung (Zellschaden) und dessen Verlauf an. Es sind 5 Isoformen von LDH bekannt, die in verschiedenen Organen vorkommen. ⁽⁴⁹⁾

Einige Arbeiten haben ergeben, dass LDH bei Patienten mit Melanomen im Stadium IV fast immer relevant erhöht ist. In einer Studie hat es gar eine Spezifität von 92%. ⁽⁵⁰⁾ Da die Laktatdehydrogenase jedoch bei jedem Zelluntergang in nahezu jedem Organ erhöht sein kann, weist es eine geringe Sensitivität auf.

2.5.3.4 5-S-Cysteinyldopa (5-S-CD)

5-S-Cysteinyldopa (5-S-CD) ist auch ein Metabolit des Melaninstoffwechsels. Der Nachweis im Serum erfolgt mittels High-Performance Liquid Chromatographie (HPLC). Zwar korreliert der 5-S-CD-Level in einigen Studien mit dem Tumorstadium, aber signifikant erhöhte Werte zeigten sich nur im Stadium IV. ⁽⁵¹⁾

5-S-CD weist in einigen Studien erhebliche Schwankungen der Werte bei verschiedenen ethnischen Gruppen und in Abhängigkeit der Jahreszeit auf. Zudem ist die Labormethode zum Nachweis sehr aufwendig und kostenintensiv. ⁽⁵²⁾

2.5.3.5 Neuronen-spezifische Enolase (NSE)

Dieses Enzym kommt in Neuronen und neuroendokrinen Zellen vor. NSE wurde dementsprechend als Marker für neuroendokrine Tumore eingesetzt. Während eine Studie erhöhte Werte im Stadium IV bei malignen Melanomen nachweisen konnte ⁽⁵³⁾, widersprechen dem einige andere Studien, die keinen Nachweis einer Korrelation zwischen der Erkrankung und den NSE-Werten erbringen konnten. ^(54, 55)

2.5.3.6 Lipid-bound sialic acid (LASA-P)

Auch beim Tumormarker Lipid-bound sialic acid (LASA-P) widersprechen sich die Ergebnisse der Studien. Eine Studie spricht von einer Sensitivität von 65% ⁽⁵⁶⁾, während eine andere den Zusammenhang mit der Tumorprogression verneint. ⁽⁵⁷⁾

2.6 Therapie des malignen Melanoms

2.6.1 Operative Therapie

Die operative Therapie stellt bei klinisch oder histologisch gesicherter Diagnose von Melanomen ohne erkennbare Metastasen die Therapie der ersten Wahl dar. Nach histologischer Sicherung der Diagnose folgt eine Nachresektion in einem bestimmten Sicherheitsabstand, welcher sich nach der Tumordicke und damit nach dem Metastasierungsrisiko richtet. ⁽⁵⁸⁾

In Tabelle 9 sieht man die in vielen Zentren (auch in der Klinik für Dermatologie der Charité) benutzten drei Abstufungen zur Exzision des Sicherheitsabstandes. Bei Vorliegen zusätzlicher Risikofaktoren (z.B. Ulzeration, Regression) wird die Wahl des nächst höheren Sicherheitsabstandes empfohlen. ⁽⁵⁹⁾ Ebenso wird den Patienten ab einer Tumordicke von 1 mm eine Wächterlymphknotenbiopsie (SLND) angeboten. Die vor Jahren noch häufiger durchgeführte elektive Lymphknotendissektion (ELND) wird heute nicht mehr, es sei denn in klinischen Studien durchgeführt. ⁽⁷⁾

Bei Patienten mit dickeren Primärtumoren bleibt ein radikales operatives Vorgehen ohne Einfluss auf das Risiko der Fernmetastasierung ^(59, 60, 61). Bei den häufig im Gesicht auftretenden lentigo-maligna Melanomen kann per histologischer mikrographischer Kontrolle ein reduzierter Sicherheitsabstand angewandt werden.

Tumordicke nach Breslow	Sicherheitsabstand
in situ	0,5 cm
bis 2 mm	1 cm
> 2 mm	2 cm

Tabelle 9: Exzisionsstrategie im klinischen Stadium des Primärtumors (7)

Bei Melanompatienten die sich im Stadium III mit Lymphknotenbefall befinden, wird eine komplettierende Lymphknotendisektion empfohlen. (59, 62, 63, 64)

Im Stadium IV (Fernmetastasen) sollten einzelne oder einige wenige Metastasen in einem Organ soweit möglich komplett entfernt werden. Metastasenresektionen zur Verringerung der Tumormasse werden in der Literatur unterschiedlich bewertet. (59, 65, 66)

2.6.2 Palliative Therapien

2.6.2.1 Strahlentherapie

Strahlentherapien werden außer bei inoperablen lentigo-maligna Melanomen nur als palliativer Therapieansatz empfohlen. (59, 67) Bei Patienten mit Fernmetastasen (Stadium IV) oder inoperablen Lymphknotenmetastasen können durch die Radiatio gute Erfolge erzielt werden. Sie scheint besonders für Hirn- und Skelettmetastasen geeignet zu sein. So konnte in einer Studie eine langfristige lokale Tumorkontrolle in über 70 % der Fälle erreicht werden. (68) Bei Vorhandensein von wenigen cerebralen Metastasen (in der Regel bis drei) kann eine stereotaktische Radiatio erwogen werden. Alternativ kann die Resektion von operablen, solitären Hirnmetastasen, gefolgt von einer cerebralen Bestrahlung, die Überlebenszeit in manchen Fällen verlängern. (69, 70)

2.6.2.2 Chemotherapie

Generell hat die Chemotherapie beim Melanom nur sehr geringen Nutzen. Metastasen der Haut, der Weichteile, der Lymphknoten und der Lunge sprechen generell besser auf eine Chemotherapie an, als viszerale Metastasen, Skelett- oder Hirnmetastasen. ⁽³⁾

Den Standard stellt die Mono-Chemotherapie mit Dacarbazin dar. ⁽⁵⁹⁾ Bei Patientinnen wird zusätzlich der Östrogenantagonist Tamoxifen vermehrt eingesetzt. ⁽⁷¹⁾

Ferner gibt es eine Reihe von alternativen Kombinationschemotherapien, wie das BHD-Schema, das BOLD-Schema, das DVP-Schema oder das DBCT-Schema welche bei einigen Patienten (Responder) höhere Remissionsraten versprechen. ^(72, 73, 74)

Zudem gibt es eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten von zwei bis vier Wirkstoffen als Chemoimmuntherapie. Hierbei muss man die oft hohe Toxizität dieser Kombinationen berücksichtigen. Die Ansprechraten reichen von 6% bis 73%. Die Ergebnisse mehrere Studien weisen darauf hin, dass die Zugabe von Interferon-alpha oder Interleukin-2 zu klassischen Chemotherapien zu einer Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit führen könnten. Dies korreliert aber in vielen Fällen nicht mit den Remissionsraten. ^(75, 76, 77, 78)

Eine Entscheidung über das optimale Schema unter diesen vorgeschlagenen Vorgehensweisen kann derzeit noch nicht getroffen werden. Die hohen Ansprechraten aus einigen monozentrischen amerikanischen Studien wurden noch nicht in größeren multizentrischen Studien überprüft, auch ein Vorteil hinsichtlich des Überlebens bleibt noch nachzuweisen. ⁽⁵⁹⁾

2.6.2.3 Adjuvante Therapie

In der Vergangenheit wurden viele Stoffe zur adjuvanten Immuntherapie getestet, welche alle keine Vorteile im Gesamtüberleben oder der rezidivfreien Zeit hatten. Dazu gehören Misteltherapie, Vitamin A, Corynebacterium-parvum-Impfung und einige Impfversuche mit Vakzinin wie die GM2-Antikörper Vakzination. ^(7, 79)

Eine Studie zur Therapie von Patienten mit Hochrisiko-Primärtumoren mit Interferon-gamma ergab sogar eine erhöhte Rezidivrate. ⁽⁸⁰⁾ Interleukin-2 wurde bislang auch zusammen mit Interferon-alpha untersucht. Hier zeigte sich ein Trend zu einem verlängerten Gesamtüberleben der Behandelten. ^(7, 81)

Interferon-alpha hat bislang die besten Ergebnisse in prospektiv randomisierten Studien gebracht. Es war die erste immuntherapeutische Substanz, die sowohl eine signifikante

Verlängerung der rezidivfreien Überlebenszeit als auch eine Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit zeigen konnte. ^(82, 83, 84) Eine adjuvante Therapie mit Interferon-alpha sollte daher allen Patienten mit erhöhtem Metastasierungsrisiko angeboten werden, soweit keine Kontraindikationen bestehen. ⁽⁵⁹⁾

2.7 Melanomnachsorge

Nach dem initialen Staging wird anhand des Risikos ein Nachsorgeplan festgelegt, welcher sich natürlich auch nach dem therapeutischen Vorgehen richtet. Die Deutsche Dermatologische Gesellschaft empfiehlt in den ersten fünf postoperativen Jahren eine intensivierete Nachsorge, denn in diesem Zeitraum treten 90% aller Metastasen auf. ⁽⁵⁹⁾ Um auch den Spätmetastasen und Zweitmelanomen Rechnung zu tragen, wird eine Nachsorge über 10 Jahre bis lebenslang empfohlen. ^(59, 85)

Stadium und Tumordicke	Körperliche Untersuchung 1. – 5. Jahr	Körperliche Untersuchung 6. – 10. Jahr	Lymphknoten-sonografie 1. – 5. Jahr	Blutuntersuchung 1. – 5. Jahr	Bildgebende Untersuchung 1. – 5. Jahr
I, =<1mm	6	12	Keine	Keine	Keine
I+II, > 1mm	3	6-12	6	3-6	Keine
III	3	6	3-6	3-6	6
IV	Individuell				

Tabelle 10: Empfehlungen für die Nachsorge kutaner maligner Melanome (Intervalle in Monaten) ⁽⁷⁾

Das Hauptaugenmerk sollte in einer Tumornachsorge für Melanompatienten natürlich auf der Tumorfreiheit bzw. der frühen Erkennung einer Progression liegen. Dazu gehört die Überwachung des Pigmentsystems zur Früherkennung von Melanomvorläufern und Zweitmelanomen. Einer speziellen Nachsorge bedürfen Risikopatienten mit dem Syndrom „dysplastischer Naevi“.

Auch eine psychosoziale Betreuung sollte gewährleistet sein. Zudem können in der Tumornachsorge adjuvante Therapien überwacht und durchgeführt werden. ⁽⁷⁾

In viele Studien zu Nachsorgeprogrammen, besonders in Bezug auf metastasierte Melanome, wird der Einfluss auf das Gesamtüberleben kritisch gesehen. ^(86, 87) Besonders kritisch ist hier der Einsatz bildgebender Verfahren zu sehen, da die Detektionsrate der Rezidive in der gängigen radiologischen Diagnostik gering ist. ^(88, 89) Die meisten Rezidive wurden durch Selbstuntersuchung des Patienten oder durch die körperliche Untersuchung des Arztes entdeckt. ^(90, 91)

Aufgrund dieser Erkenntnisse ist es das Ziel einen Tumormarker zu etablieren, der zuverlässig einen Anhalt auf Metastasen oder Progression gibt.

3 Ziel der Studie

Bei der Kontrolle der Therapieerfolge besteht in der Melanomnachsorge das Problem, dass die Detektion von Metastasen sowohl aufwendig, als auch teuer und teilweise wenig sensitiv ist. (^{3,7}) Darum ist der Wunsch nach einem Tumormarker mit ausreichender Sensitivität und Spezifität bei jedem Malignom groß.

Für das maligne Melanom sind verschiedene Tumormarker in Benutzung. Da der Tumormarker MIA in der Melanomnachsorge der Charité seit mehreren Jahren in Gebrauch ist, ist es das Ziel dieser retrospektiven Arbeit, die Eignung von MIA als Verlaufsparemeter und als Detektor für Metastasen zu untersuchen.

Zentral ist hier die Frage, ob das Staging durch die Kontrolle des Tumormarkers gezielter durchgeführt werden kann und dadurch unnötige Untersuchungen zu vermeiden sind.

Zudem ist die Frage zu beantworten, wie prognostisch wertvoll der Tumormarker MIA ist und ob es möglich ist, mit Hilfe seiner Aussagekraft das Gesamtüberleben zu steigern.

Auch die nicht unerhebliche körperliche und emotionale Belastung der Patienten, die sich in der Nachsorge befinden, könnte durch einen aussagekräftigen Tumormarker möglicherweise reduziert werden, da komplizierte Nachsorgeuntersuchungen oft zur Verunsicherung der Patienten beitragen und die Lebensqualität beeinträchtigen.

4 Material und Methoden

4.1 Bestimmung des MIA-Wertes mittels ELISA

Zur Bestimmung des MIA-Wertes wird mittlerweile ein kommerziell erhältlichen Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet. Benötigt wird hierzu eine einfache Blutserum-Probe. Zwei markierte monoklonale Antikörper isolieren MIA, indem sie am Anfang und am Ende der Sequenz angreifen. MAB 1A12 ist der eine Antikörper, der gegen einen 14 Aminosäuren langen Sequenzbereich am N-terminalen Ende gerichtet ist. MAB 2F7 greift einen ebenso langen Bereich am C-terminalen Ende des Proteins an.

4.1.1 Entnahme, Lagerung und Aufarbeitung der Proben

Den Patienten wurden 10 ml Blut in ein handelsübliches Serumröhrchen abgenommen. Darauf folgte das Zentrifugieren bei 5000 RPM. Nun waren die Erythrozyten und weißen Blutkörperchen vom Serum getrennt. Bis die Bestimmung erfolgte, wird das Serum bei -70° C in einem Nunc-Gefäß gelagert. Verwendet wurde der MIA-ELISA der Firma Roche Diagnostics (Bestell-Nummer: 1976826).

Die Bestimmung erfolgte anhand der Gebrauchsanleitung des Herstellers.

- 1.) Pipettieren von jeweils 20 µl Patientenserum in eine mit Streptavidin markierte 96-Lochplatte.
- 2.) Inkubation für 90 Minuten mit dem biotinylierten MAB 2F7 und POD-konjugierten MAB 1A12-Antikörpern
- 3.) Dreimaliges Waschen mit Phosphat gepufferter Lösung (PBS)
- 4.) Inkubation für 10-20 Minuten mit ABTS-Lösung (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenz-thiazolinsulfonat]).
- 5.) Messung des entstandenen Farbumschlages in einem MRX II ELISA-Reader (Dynex Technologies Chantilly, Virginia, USA) bei 405 nm Wellenlänge.

Die Kalibrierung erfolgt mittels der sechs Standardlösungen, welche im Lieferumfang des Kits enthalten sind. Hier kommt ein rekombinantes MIA-Protein zum Einsatz, welches von einer stabil mit MIA-cDNA transfizierten CHO (Chinese Hamster Ovary)-Zelllinie gewonnen wurde. Die sechs Standardlösungen entsprechen den linearen Signalen zwischen 0 und 50 ng/ml, die beim Kalibrieren gemessen werden. Die Analyse der Patientenproben erfolgte jeweils ohne Kenntnis des klinischen Stadiums oder des Metastasierungsgrades. Jede MIA-Serumprobe wurde doppelt bestimmt, wobei die Ergebnisse nie mehr als 5% voneinander abwichen.

4.2 Patienten

Retrospektiv wurden 206 Patienten mit einem malignen Melanom im Stadium III nach AJCC 1997 analysiert. Die Patienten befanden sich von 1992 bis 2003 in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité in Behandlung. Der Tumormarker MIA wird in der Charité seit 1999 regelhaft in der Melanomnachsorge bestimmt. Vereinzelt wurden aber schon seit 1997 MIA Serumproben abgenommen. Mittels Recherche in den Krankenakten wurden 34 Merkmale erfasst. Darunter Alter, Geschlecht, Lokalisation und Art des Melanoms. Erfasst wurde auch der zeitliche Verlauf der Tumorerkrankung (Entwicklung eines Rezidivs mit Art und Lokalisation), die angewandten Therapien und 2094 Serumproben für die melanoma inhibitory activity (Verläufe) mit den dazugehörigen LDH-Werten. Die Stadieneinteilung erfolgte mit Rücksicht auf den langen Beobachtungs-Zeitraum und den daraus resultierenden erfassbaren Daten mittels der Staging Tabelle der AJCC von 1997. Das bedeutet, dass die Ulzeration des Tumors nicht in das Staging mit eingehen konnte, da diese Daten in den Patientenakten von 1992 bis 2000 nicht zur Verfügung standen. Zudem wurden die MIA-Werte von 313 Nicht-Melanompatienten bestimmt und als Vergleichsgruppe herangezogen.

4.3 Statistische Methoden

Zur Beschreibung der Verteilung von quantitativen Merkmalen wurden folgende statistische Maßzahlen berechnet:

- der arithmetische Mittelwert und der Median als Lagemaße
- die Standardabweichung und die Quartile zur Charakterisierung der Streuung
- die Minimal- und Maximalwerte
- die Konfidenzintervalle für die Mittelwerte
- die Schiefe, eine der Charakterisierungen der symmetrischen Normalverteilung

Zur grafischen Darstellung dienen Histogramme, um die Verteilung der Werte in einzelnen Gruppen zu verdeutlichen.

Für den Vergleich zwischen den Werten verschiedener Gruppen verwende ich Boxplots, aus denen Median, Quartile sowie Maxima und Minima ablesbar sind. Im Falle symmetrischer Verteilungen werden Fehlerbalken benutzt, wobei die Balken in den ausgeführten Grafiken das 95%ige Konfidenzintervall (C_i) des Mittelwertes ausdrücken.

Für die qualitativen Merkmale (nominale und ordinale Skalen) werden die (absoluten) Häufigkeiten der Werte in Balken- oder Kreisdiagrammen dargestellt. Bei Vergleichen von Gruppen mit unterschiedlicher Fallzahl (n) werden relative Häufigkeiten benutzt. Zudem werden die qualitativen Merkmale mit der Kontingenztafelmethode und dem parameterfreien χ^2 -Test ausgewertet. Die Nullhypothese H_0 geht von der gleichen Verteilung der Merkmalswerte eines Merkmals in den einzelnen Gruppen aus. Dabei wird, wie in der Medizin allgemein üblich, von einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ausgegangen. Ist also die Wahrscheinlichkeit $p < 0,05$, so muss die Nullhypothese abgelehnt werden. Es bestehen signifikante Unterschiede in den Häufigkeitsverteilungen zwischen den Gruppen. Die Voraussetzung für die Durchführung des χ^2 -Test, der ein so genannter asymptotischer Test ist, ist eine nicht zu kleine Fallzahl.

Zur Beschreibung der Verteilung der Werte eines Merkmals in den einzelnen Gruppen werden die Zeilen- bzw. Spaltenprozentage der Kontingenztafel erstellt. Im Falle der Signifikanz ($p < 0,05$), also bei Unterschieden in der Verteilung, ist es für eine inhaltliche Interpretation wichtig aufzudecken, wo diese Unterschiede liegen.

Zur Bewertung der Häufigkeiten in den einzelnen Zellen werden die erwarteten Häufigkeiten und die standardisierten Residuen angegeben. Analog kann man den χ^2 -Test auch zur Überprüfung von Zusammenhängen zwischen zwei qualitativen Merkmalen, z.B. innerhalb einer Gruppe, anwenden. Hier lautet die Nullhypothese H_0 , dass beide Merkmale unabhängig voneinander sind. Im Falle der Signifikanz (das Testvorgehen ist das Gleiche wie bei der oben beschriebenen Hypothese der Gleichheit) spricht man von Abhängigkeit der beiden Merkmale. ⁽⁹²⁾

Die Kaplan-Meier-Überlebenskurven, mit denen auch die Überlebenszeit dargestellt wird, wurden mittels Log-Rank Test ausgewertet.

Bei dem Vergleich der Sensitivität und Spezifität von MIA und LDH wird die Receiver Operating Characteristic (ROC)- Kurve verwendet. Das ist eine Methode zur Bewertung und Optimierung von Analysestrategien. Die ROC-Kurve stellt die Abhängigkeit der Effizienz von der Fehlerrate dar. Hier wird der Grenzwert als Lot dargestellt. Nun kann man die Flächen unter dem Lot und damit die Unterschiede betrachten. ⁽⁹²⁾

Die statistische Auswertung und Berechnung erfolgte mit dem Programm SPSS ® Base. Für einige Tabellen und Diagramme wurde Microsoft® Excel sowie Microsoft® Word, Version aus dem Jahre 2002, verwendet.

5 Ergebnisse

5.1 Die gesunde Kontrollgruppe

Da es keinen festgelegten einheitlichen Wert gibt, bei dem MIA als pathologisch anzusehen ist, erfolgte die Bestimmung des Cut-off an einer Normalgruppe von 313 Nicht-Melanompatienten. Der Mittelwert lag in dieser Gruppe bei 6,5488, der Median bei 6,3000. Bei einem Minimum von 1,24 ng/ml und einem Maximum von 16,17 ng/ml der MIA-Werte ergab sich eine Standardabweichung von 2,17464. Diese Maßzahlen und Verteilungen ergeben folgende Grafik:

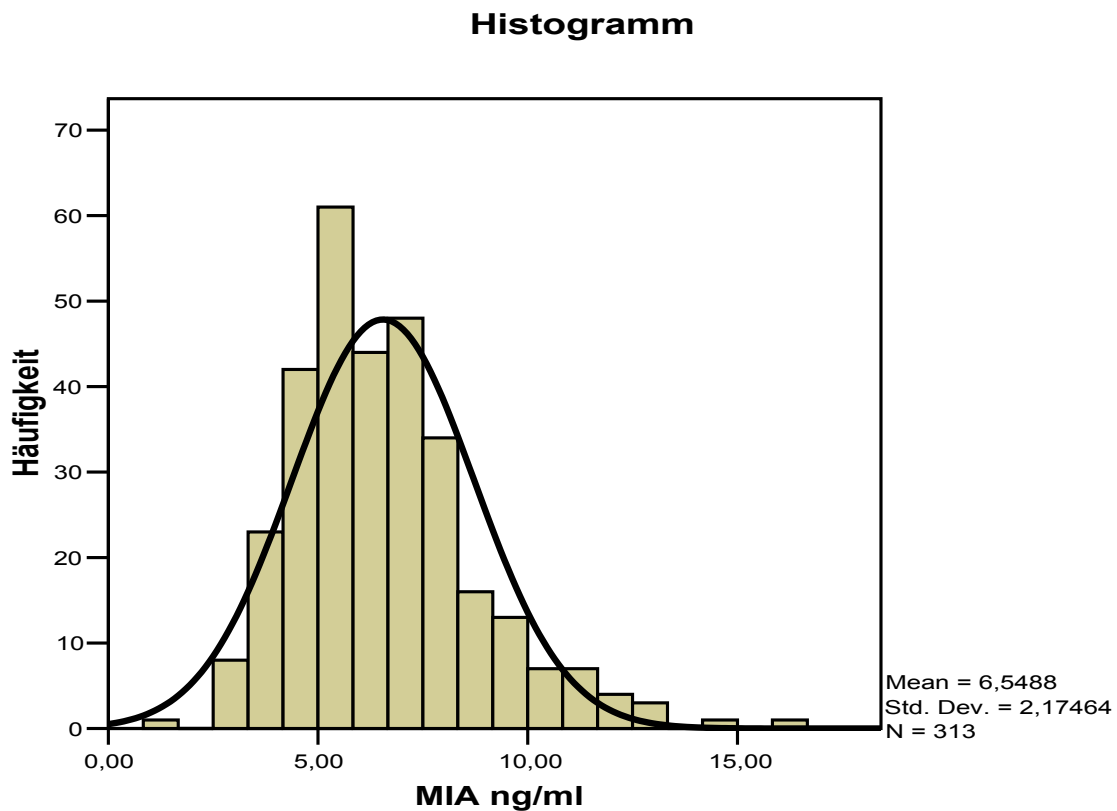


Abbildung 13: Die gesunde Kontrollgruppe

Im Vergleich mit einer Normalverteilung nach Gauß ist eine leichte Linkssteilheit erkennbar. Diese liegt aber noch im Normalbereich, da die Schiefe 0,971, also < 1 ist.

5.2 Das Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv unseres Archivs (206 Patienten im Stadium III) bestand bis zum Ende des Erfassungszeitraumes aus jeweils 103 männlichen und 103 weiblichen Personen mit einem malignen Melanom im Stadium III nach AJCC 1997, die zwischen 20 und 88 Jahren alt waren. Die genauere Verteilung des Alters und der Geschlechter geht aus der folgenden Grafik und der dazugehörigen Tabelle hervor:

5.2.1 Altersverteilung und Geschlechterverteilung

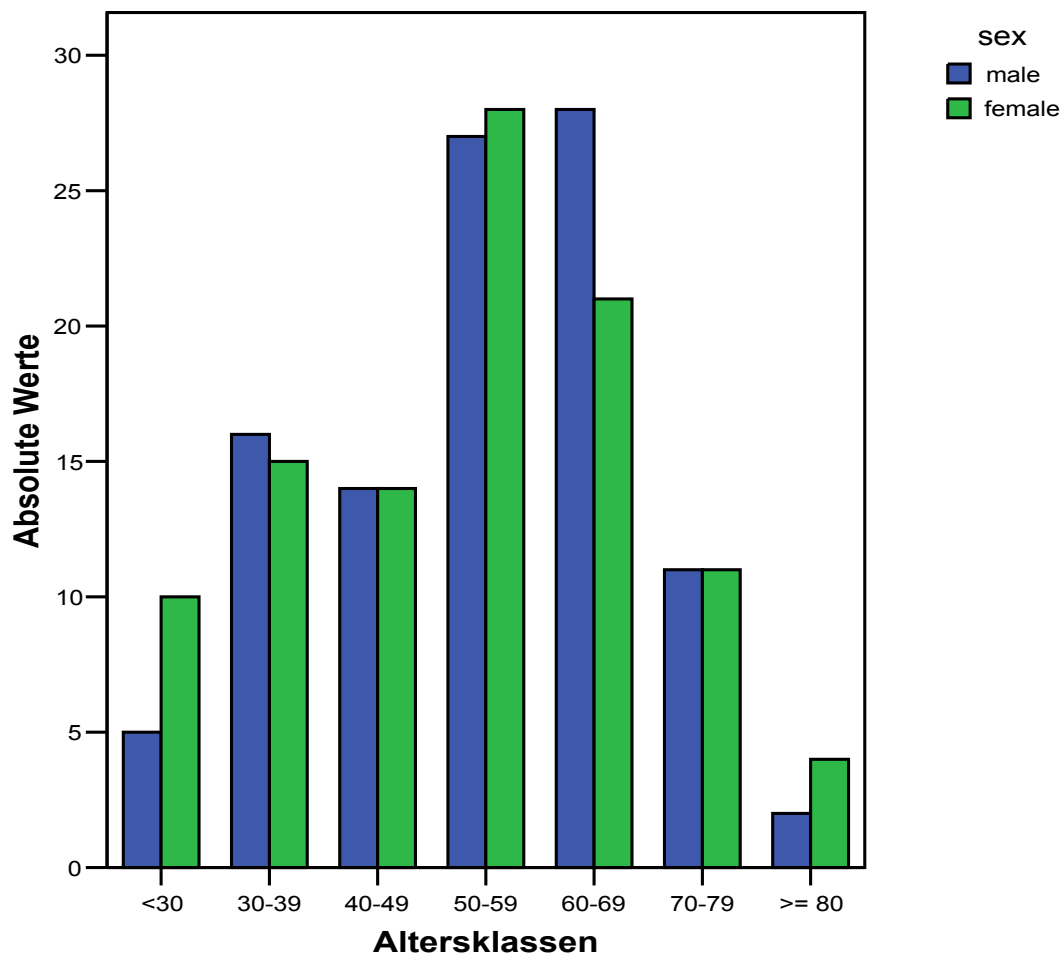


Abbildung 14: Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten

	weiblich	männlich	gesamt
Mittelwert	53,4	53,9	53,7
Median	54,4	55,2	54,9
Standardabweichung	16,0	13,9	15,0
Minimum	21,5	20,1	20,1
Maximum	88,2	86,0	88,2

Tabelle 11: Stammdaten der Patienten

5.2.2 Verteilungen nach Art des Melanoms

Wie die unten stehende Grafik verdeutlicht, decken sich die Häufigkeiten der jeweiligen Melanomtypen in der von uns untersuchten Gruppe ungefähr mit der einschlägigen Literatur. Auffällig ist hierbei jedoch das um ca. 10% häufigere Auftreten des nodulären Melanoms.

Zusätzlich fällt in der unten stehenden Kreuztabelle auf, dass das akral-lentiginöse Melanom bei Frauen doppelt so häufig auftritt wie bei Männern.

Errechnet man die Konfidenzintervalle (Ci) für die Mittelwerte, so ergeben sich keine Signifikanzen zwischen dem Alter und der Melanomart.

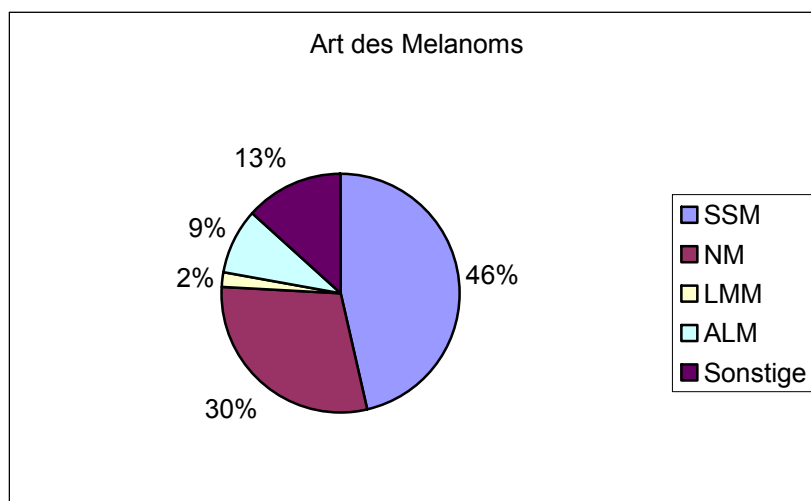


Abbildung 15: Verteilung nach Art des Melanoms

Alter		SSM	NM	LMM	ALM	sonstig	Gesamt
<30	Anzahl	6	6	0	0	3	15
	% der Altersklasse	40,0%	40%	0%	0%	20%	100%
	% der Art	6,4%	10%	0%	0%	11,1%	7,4%
30-39	Anzahl	16	8	1	0	5	30
	% der Altersklasse	53,3%	26,7%	3,3%	0%	16,7%	100%
	% der Art	17,0	13,3%	25,0%	0%	18,5%	14,8%
40-49	Anzahl	13	4	0	5	6	28
	% der Altersklasse	46,4%	14,3%	0%	17,9%	21,4%	100%
	% der Art	13,8%	6,7%	0%	27,8%	22,2%	13,8%
50-59	Anzahl	29	13	1	5	6	54
	% der Altersklasse	53,7%	24,1%	1,9%	9,3%	11,1%	100%
	% der Art	30,9%	21,7%	25,0%	27,8%	22,2%	26,6%
60-69	Anzahl	20	19	2	5	3	49
	% der Altersklasse	40,8%	38,8%	4,1%	10,2%	6,1%	100%
	% der Art	21,3%	31,7%	50,0%	27,8%	11,1%	24,1%
70-79	Anzahl	8	9	0	2	3	22
	% der Altersklasse	36,4%	40,9%	0%	9,1%	13,6%	100%
	% der Art	8,5%	15,0%	0%	11,1%	11,1%	10,8%
>80	Anzahl	2	1	0	1	1	5
	% der Altersklasse	40,0%	20,0%	0%	20,0%	20,0%	100%
	% der Art	2,1%	1,7%	0%	5,6%	3,7%	2,5%
Gesamt	Anzahl	94	60	4	18	27	203
	% der Altersklasse	46,3%	29,6%	2,0%	8,9%	13,3%	100%
	% der Art	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 12: Verteilung nach Alter, Geschlecht und Art des Melanoms

5.2.3 Verteilungen nach Lokalisation des Melanoms

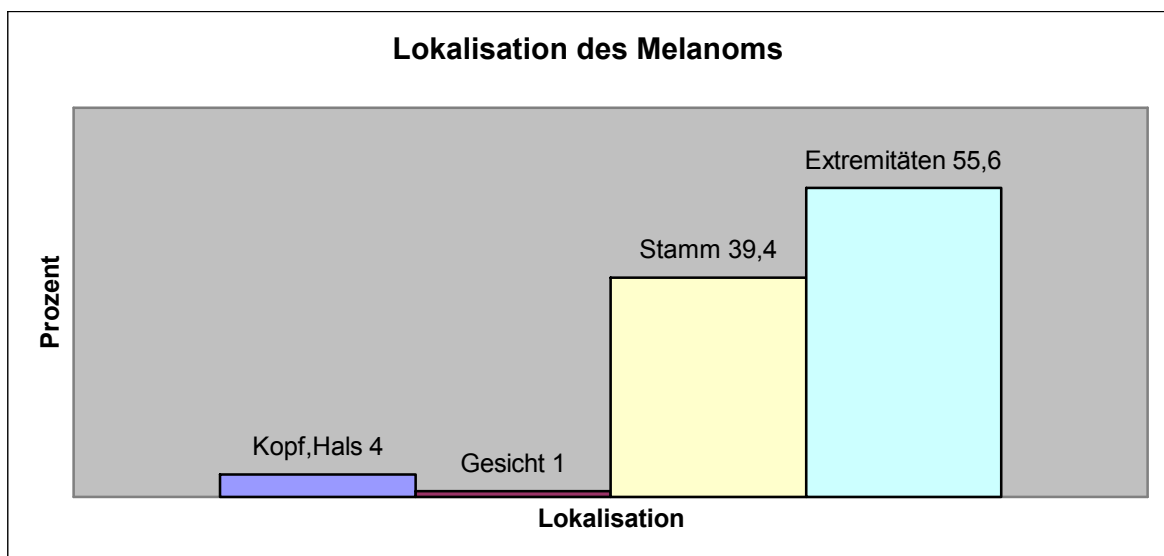


Abbildung 16: Verteilung nach Lokalisation

Auch in dieser deskriptiven Statistik entsprechen die Häufigkeiten in der von uns untersuchten Gruppe den Beschreibungen anderer Autoren. Interessanter wird diese Verteilung, wenn man zusätzlich die Geschlechter betrachtet. Es fällt auf, dass die Frauen signifikant häufiger an Melanomen an den Extremitäten erkranken, wogegen bei den Männern die Melanome im Körperstammbereich und an Kopf und Hals gehäuft auftreten.

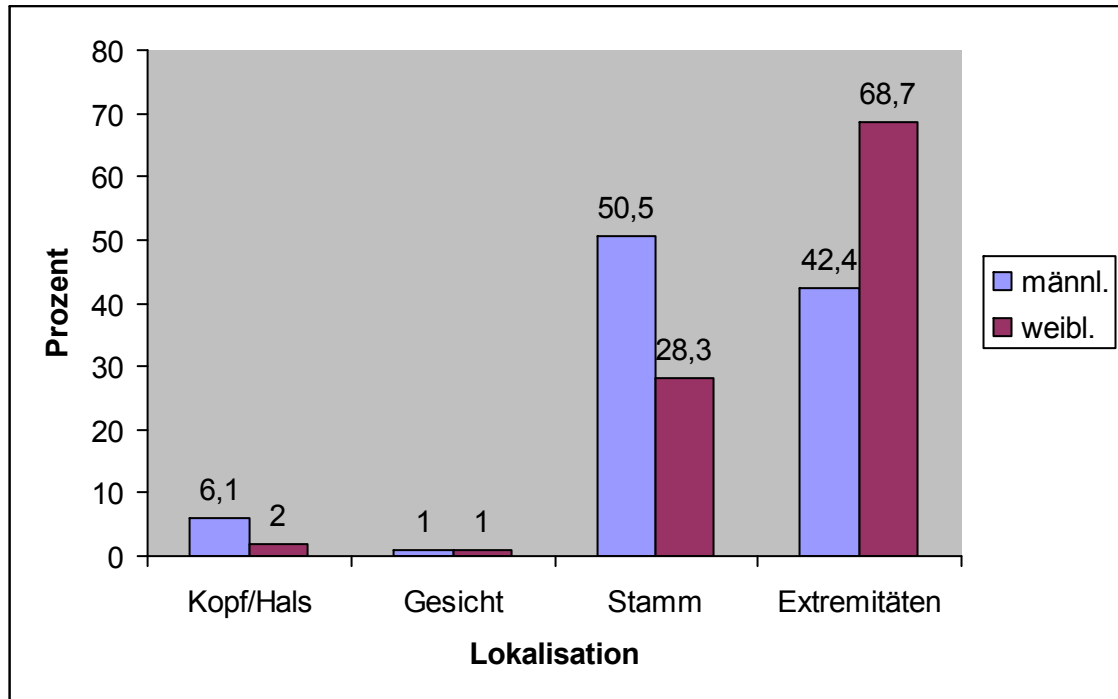


Abbildung 17: Verteilung nach Lokalisation und Geschlecht

Betrachtet man die Lokalisation in Beziehung zum Alter der Patienten, fällt ein signifikanter Unterschied auf. Die Patienten mit Melanomen an den Extremitäten sind durchschnittlich 6 Jahre älter als die Patienten, die an Melanomen am Körperstamm erkranken. Aufgrund der geringen Anzahl der Patienten mit Melanomen im Kopf, Hals und Gesichtsbereich, kann man hier keine Beziehung zum Alter beschreiben.

Oneway Anova

Lokalisation	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standard fehler	95%-Ci für Mittelwert		Min.	Max.
					Min.	Max.		
Kopf, Hals	8	47,3	17,2	6,0	32,9	61,6	24,3	73,4
Gesicht	2	59,3	3,5	2,5	27,3	91,2	56,8	61,8
Stamm	78	50,5	14,0	1,5	47,4	53,7	21,5	78,1
Extremität	110	56,5	15,4	1,4	53,6	59,4	20,1	88,2
Gesamt	198	53,8	15,1	1,0	51,7	55,9	20,1	88,2

Tabelle 13: Verteilung nach Lokalisation und Alter

Verdeutlicht werden diese Zusammenhänge mittels folgender Grafik, in der das 95%ige Konfidenzintervall des Alters auf die Lokalisation abgebildet wird:

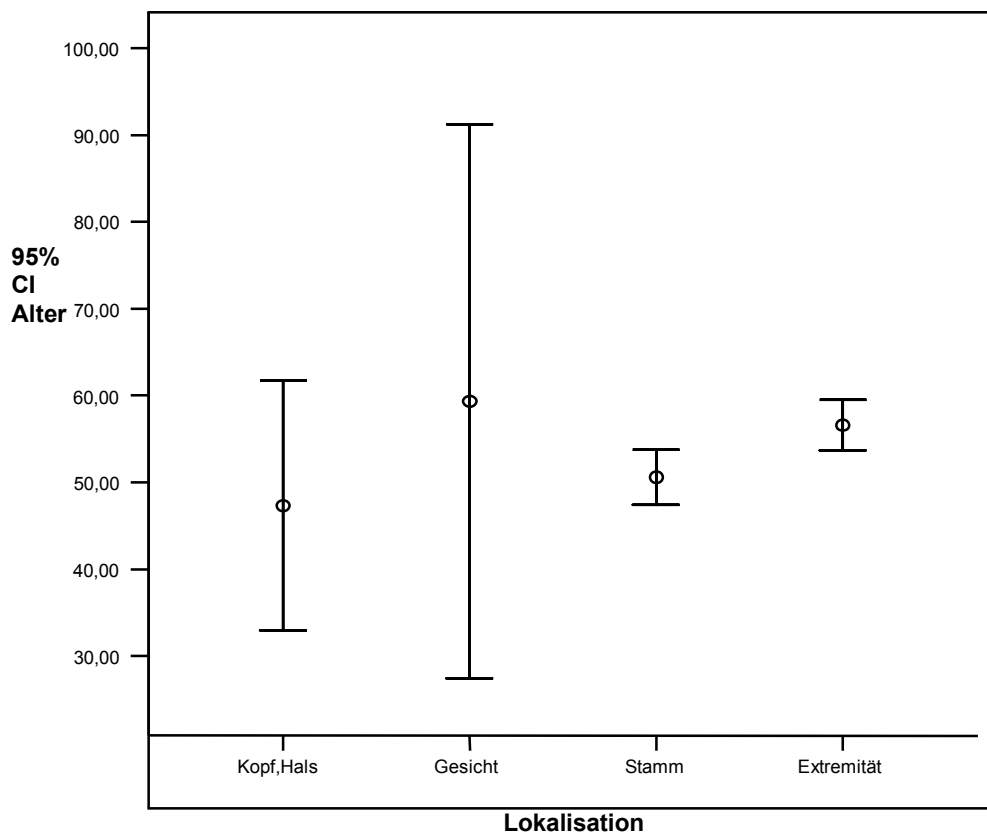


Abbildung 18: 95% Konfidenzintervall auf Patientenalter

Anmerkung: Errechnet wurden die oben gezeigten Werte und Grafiken mittels Oneway Anova, einer Gruppenbetrachtung bei Normalverteilungen.

5.2.4 Der Clark-Level

Aus Gründen der statistischen Berechnung konnten zur Beschreibung der Zusammenhänge zwischen Clark-Level und Stadium nur die Daten von 57 Patienten benutzt werden.

Bei Diagnosestellung und damit chirurgischer Therapie befanden sich 130 Patienten noch in einem geringeren Tumorstadium (Stadium I oder II). Hier verbietet es sich, die Ergebnisse der Histologie (sprich der Tumorinvasion nach Clark) mit einzubeziehen, da diese Patienten das Stadium III noch nicht erreicht hatten. Bei 19 Patienten war der Primärtumor unbekannt oder die histologische Beurteilung war aus der Krankenakte nicht ersichtlich.

Von den gültigen Patienten befanden sich 5 im Stadium IIIa und 52 im Stadium IIIb. Die Verteilung dieser Patienten ist aus dem folgenden Balkendiagramm ersichtlich:

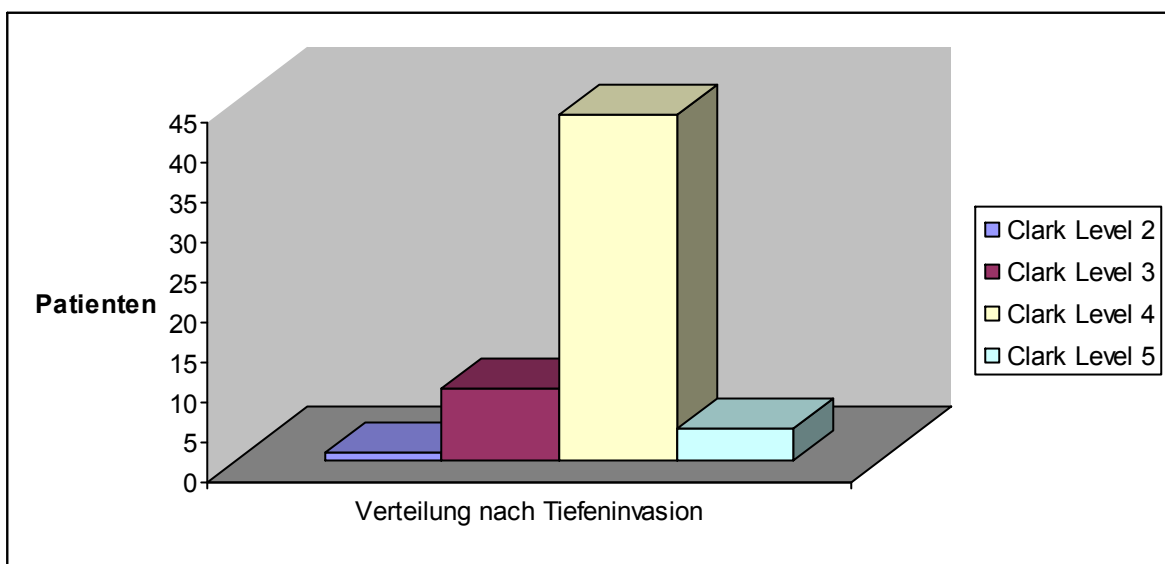


Abbildung 19: Verteilung nach Clark-Level

Bei den Patienten, bei denen das maligne Melanom im Stadium III diagnostiziert wurde, lag zu über 75% schon ein Clark Level 4 vor. Das Melanom war bereits in das Stratum reticulare eingedrungen.

5.2.5 Die Eindringtiefe nach Breslow

Für die Patientenverteilung nach der Tumordicke gilt das Gleiche wie für die Tiefeninvasion nach Clark. Hier gibt es 58 gültige Patienten. Trotzdem lohnt es sich, bei diesen Daten die Patienten mit zu betrachten, welche im Stadium I und II diagnostiziert wurden. Diese Patienten kamen durch Tumorprogression und Metastasen später in das von mir betrachtete Stadium III.

Um die Verhältnisse zu verdeutlichen, eignet sich zur Betrachtung dieser Daten ein Boxplot am besten:

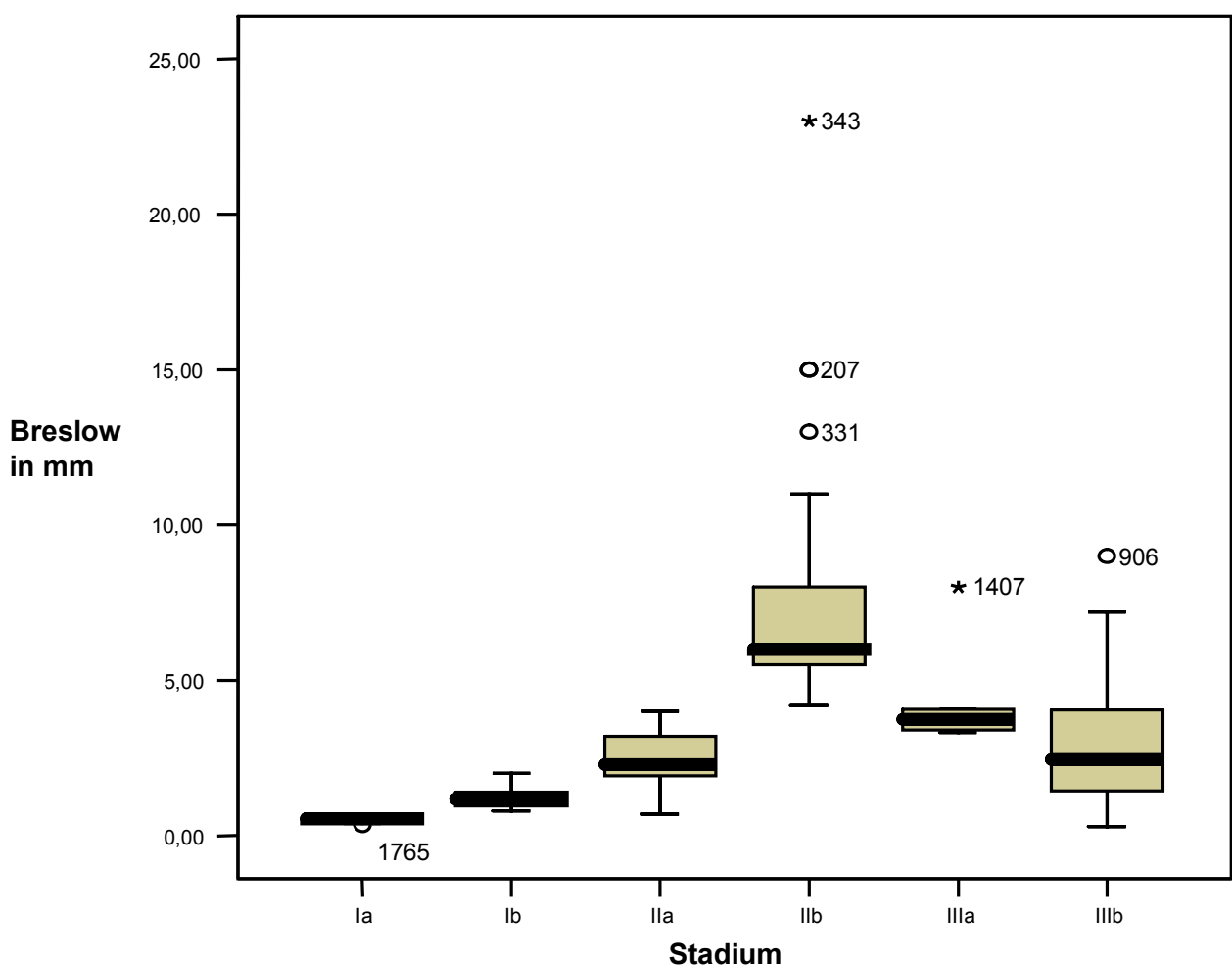


Abbildung 20: Verteilung nach Breslow

Es zeigt sich, dass die Eindringtiefe (in mm) nach Breslow im Stadium IIb am höchsten ist. Also sind diese Melanome sogar tiefer eingedrungen als im Stadium III. Da dies auf

den ersten Blick nicht logisch erscheint, wurden die Eindringtiefen nach Breslow noch einmal getrennt für superfizielle Melanome und für noduläre Melanome berechnet. Gültig sind hier 154 Patienten, von denen 94 an einem superfiziell spreitenden Melanom und 60 an einem nodulären Melanom erkrankt sind.

Berechnet man nun den Mittelwert der Eindringtiefe der SSM und NM für alle Stadien mittels T-Test, dann sieht man einen signifikanten Unterschied. Das SSM dringt im Schnitt 2,4 mm tief ein, wogegen das NM mit durchschnittlich 4,6 mm fast doppelt so tief in die Haut wächst.

	Häufigkeit	Prozent	Mittelwert	Standardabweichung
SSM	94	61	2,4	1,61
NM	60	39	4,6	3,78
Gesamt	154	100		

Tabelle 14: Eindringtiefe für NM und SSM

Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn man die 95% Konfidenzintervalle als Grafik gegeneinander aufträgt:

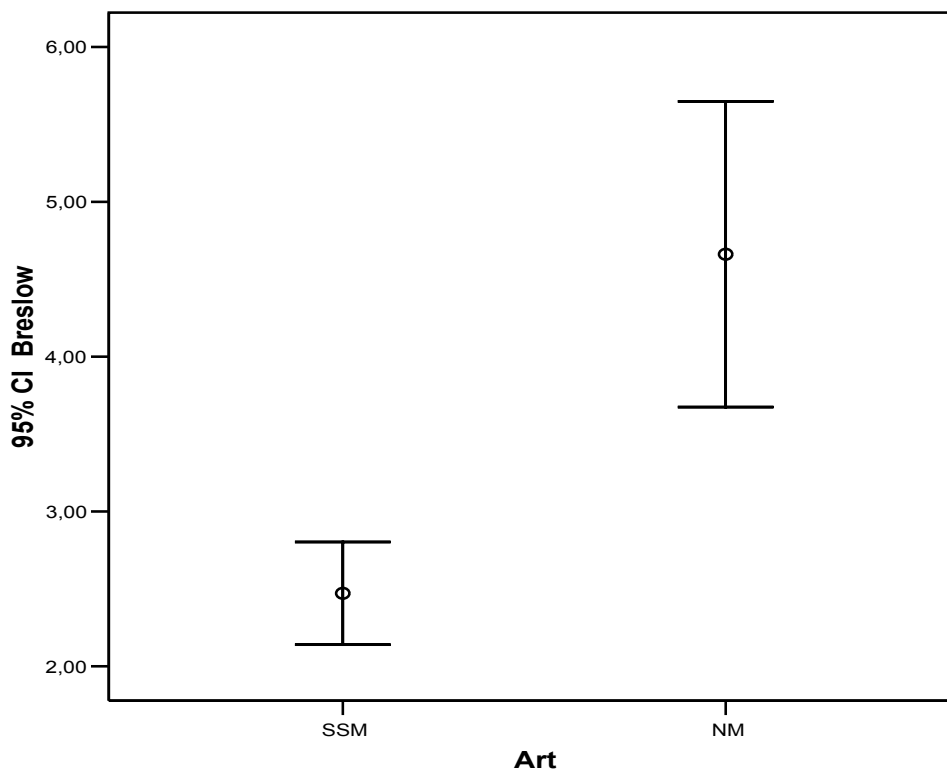


Abbildung 21: 95% Konfidenzintervalle für NM und SSM

5.2.6 Verteilung der MIA-Werte in der Patientengruppe

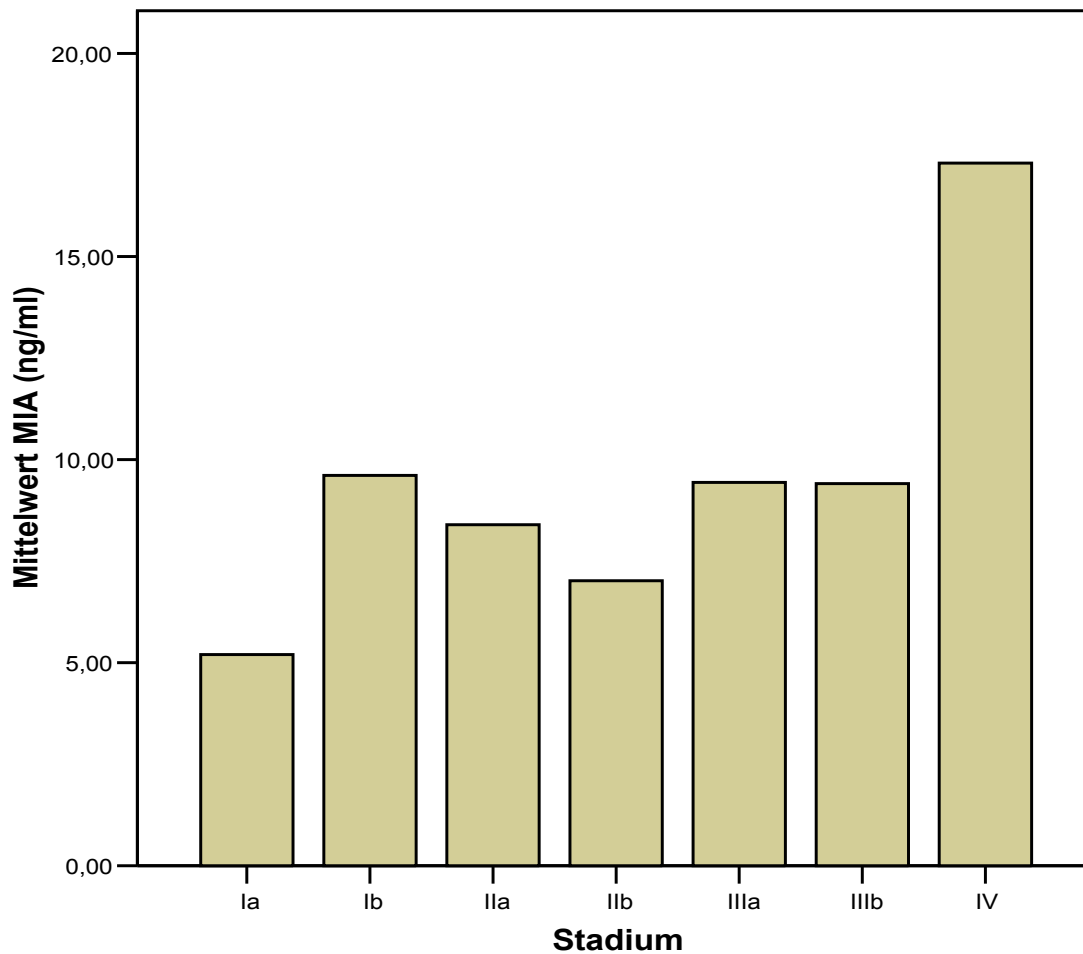


Abbildung 22: Verteilung der MIA-Werte nach Stadium

Stadium	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standard- fehler	95%-Ci für Mittelwert		Min.	Max.
					Min.	Max.		
Ia	1	5,2	----	----	----	----	5,2	5,2
Ib	9	9,6	7,7	2,6	3,7	15,5	1,5	24,8
IIa	51	8,4	4,5	0,6	7,1	9,7	3,3	24,3
IIb	10	7,0	1,9	0,6	5,6	8,3	4,7	10,7
IIIa	201	9,4	5,1	0,4	8,7	10,2	1,6	40,0
IIIb	948	9,4	8,0	0,3	8,9	9,9	0,7	66,2
IV	226	17,3	14,9	1,0	15,3	19,3	1,0	85,6
Gesamt	1446	10,6	9,4	0,2	10,1	11,1	0,9	85,6

Tabelle 15: Berechnung der Verteilung der MIA-Werte nach Stadium

Die Fehlerbalken mit den 95%igen Konfidenzintervallen sind aussagekräftiger, da hier die Anzahl (n) in die Darstellung mit eingeht. In Abbildung 23 sieht man deutlich, dass die Streuung im Stadium Ib sehr groß ist. Im Gegensatz dazu liegen die Balken im Stadium III sehr eng beieinander. Das bedeutet eine geringe Streuung und heißt, dass die gemessenen MIA-Werte in diesem Stadium innerhalb enger Grenzen liegen. Im Stadium IV ist die Streuung zwar größer als im Stadium III, aber die gemessenen Werte liegen über dem festgelegten Cut-off.

Generell ist anzumerken: Je größer die Fallzahl, desto deutlicher trennen die Werte und desto genauer stellen die Konfidenzintervalle den Zusammenhang dar.

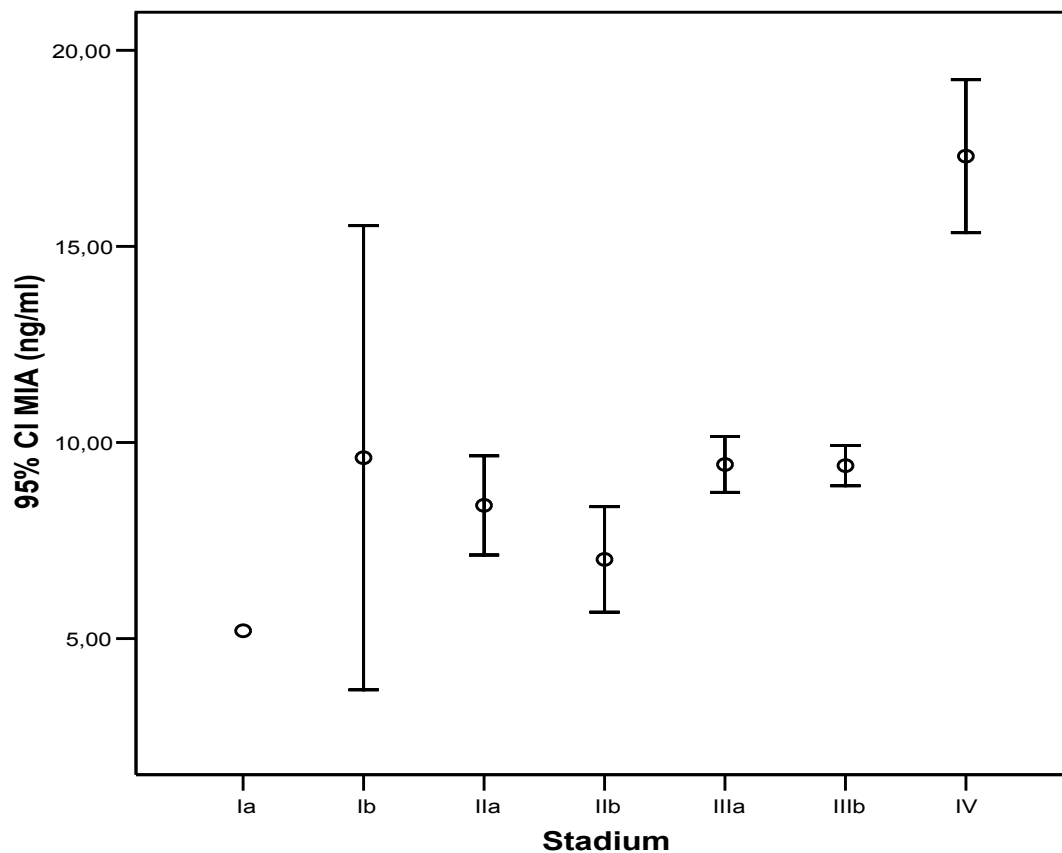


Abbildung 23: 95%ige Konfidenzintervalle der MIA-Werte

5.2.7 Cut-off-Berechnungen mit der Vergleichsgruppe

In der Vergleichsgruppe erfolgte die Berechnung mittels folgender Tabelle:

MIA normal-gruppirt

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	<=12	306	95,9	97,8	97,8
	> 12	7	2,2	2,2	100,0
	Gesamt	313	98,1	100,0	
Fehlend	System	6	1,9		
Gesamt		319	100,0		

Tabelle 16: Cut-off-Berechnung der Vergleichsgruppe

Betrachtet man noch einmal die oben stehende Normalverteilung nach Gauß (S.39), dann liegt hier der Cut-off bei der 97,5%igen Perzentile (Mia = 11,93 ng/ml). Wir haben den Cut-off gerundet und ihn auf 12 ng/ml festgelegt, mit dem im Folgenden auch gerechnet wird.

5.2.8 Sensitivität und Spezifität von MIA im Stadium III

		Zustand (Rezidiv)	
		ja	nein
Test (MIA-Wert)	Rezidiv (>12 ng/ml)	A	B
	kein Rezidiv (<=12 ng/ml)	C	D

Tabelle 17: Erklärung von Sensitivität und Spezifität

Erläuterung der Tabelle 17: A = richtig positiv
 B = falsch positiv
 C = falsch negativ
 D = richtig negativ

Die folgende Tabelle zeigt die Ausgangswerte zur Berechnung der Sensitivität und Spezifität. Die Daten sind gruppiert nach Stadien und Rezidiv im Krankheitsverlauf. Sie sind getrennt je nachdem, ob der maximale MIA-Wert unter oder über dem Cut-off liegt:

Stadium		kein Rezidiv	Rezidiv	Gesamt
Ia	MIA max ≤12	1	4	5
	MIA max >12	0	5	5
	Gesamt	1	9	10
Ib	MIA max ≤12	4	4	8
	MIA max >12	3	8	11
	Gesamt	7	12	19
Ila	MIA max ≤12	20	17	37
	MIA max >12	10	28	38
	Gesamt	30	45	75
Ilb	MIA max ≤12	7	10	17
	MIA max >12	1	11	12
	Gesamt	8	21	29
Illa	MIA max ≤12	1	4	5
	MIA max >12	1	4	5
	Gesamt	2	8	10
IIIb	MIA max ≤12	24	8	32
	MIA max >12	9	21	30
	Gesamt	33	29	62
Gesamt	MIA max ≤12	57	47	104
	MIA max >12	24	77	101
	Gesamt	81	124	205

Tabelle 18: MIA maximal gruppiert nach Stadium, Cut-off (12 ng/ml) und Rezidiv

Die Gesamtheit der 2094 MIA-Werte bei den untersuchten 206 Patienten im Stadium III des malignen Melanoms wurde bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität gegen die Normalgruppe der 313 gesunden Patienten gestellt. Hier ergibt sich eine Sensitivität von 49% bei einer Spezifität von 98%. Nimmt man nur die Patienten, die ein Rezidiv bekommen haben, dann erhält man bei gleicher Spezifität eine Sensitivität von 62%. Werden die Berechnungen differenziert und getrennt nach dem Stadium zum Zeitpunkt der Erkrankung durchgeführt (Primärstadium), so ergibt sich das beste Resultat für das Stadium III mit Rezidiv bei einer Sensitivität von 68%. Ähnliche Ergebnisse bekommt man, wenn man die positiven und negativen Vorhersagewerte vergleicht.

In der folgenden Tabelle sind alle errechneten Zahlen gegenübergestellt:

Patienten	A	B	C	D	1	2	3	4	5	6
gruppe					Sen.	Spe.	Prä.	pos. V.	neg. V.	Eff.
Alle Patienten	101	7	104	306	0,49	0,98	0,21	0,94	0,75	0,79
Alle Patienten mit Rezidiv	77	7	47	306	0,62	0,98	0,19	0,92	0,87	0,88
Stadium I	16	7	13	306	0,55	0,98	0,07	0,70	0,96	0,94
Stadium I Rezidiv	13	7	8	306	0,62	0,98	0,06	0,65	0,97	0,96
Stadium II	50	7	54	306	0,48	0,98	0,14	0,88	0,85	0,85
Stadium II Rezidiv	39	7	27	306	0,59	0,98	0,12	0,85	0,92	0,91
Stadium III	35	7	37	306	0,49	0,98	0,11	0,83	0,89	0,89
Stadium III Rezidiv	25	7	12	306	0,68	0,98	0,09	0,78	0,96	0,95

Tabelle 19: Berechnung von Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Patientengruppen

Erläuterung der Tabelle 19:

- | | |
|------------------------------|---|
| 1. Sensitivität: | Anteil der richtig erkannten Kranken |
| 2. Spezifität: | Anteil der richtig erkannten Gesunden |
| 3. Prävalenz: | Anteil der Erkrankten an der Grundgesamtheit |
| 4. positiver Vorhersagewert: | richtige positive Testergebnisse, bezogen auf alle positiven Testergebnisse (A+B) |
| 5. negativer Vorhersagewert: | richtige negative Testergebnisse, bezogen auf alle negativen Testergebnisse (C+D) |
| 6. Effizienz: | Anteil der richtigen Testresultate |

5.2.9 Auftreten des ersten Rezidivs

Beobachtet man den zeitlichen Verlauf der Melanomerkrankung und sieht sich gleichzeitig den maximalen MIA-Wert der Patienten an, dann ist ein klarer Zusammenhang zu erkennen. Die Patienten, welche einen MIA-Wert über dem festgelegten Cut-off (12 ng/ml) in einer oder mehreren Untersuchungen hatten, bekamen früher und häufiger ein Rezidiv.

Deutlicher wird der Zusammenhang zwischen MIA-Wert und Verlauf der Erkrankung, wenn man die Zahlen grafisch im Zeitverlauf darstellt. Hier sieht man in der unteren grünen Kurve die Patienten mit einem MIA-Wert über dem festgelegten Cut-off von 12 ng/ml. Jeder senkrechte Strich auf der Kurve stellt die Entdeckung eines Rezidivs dar.

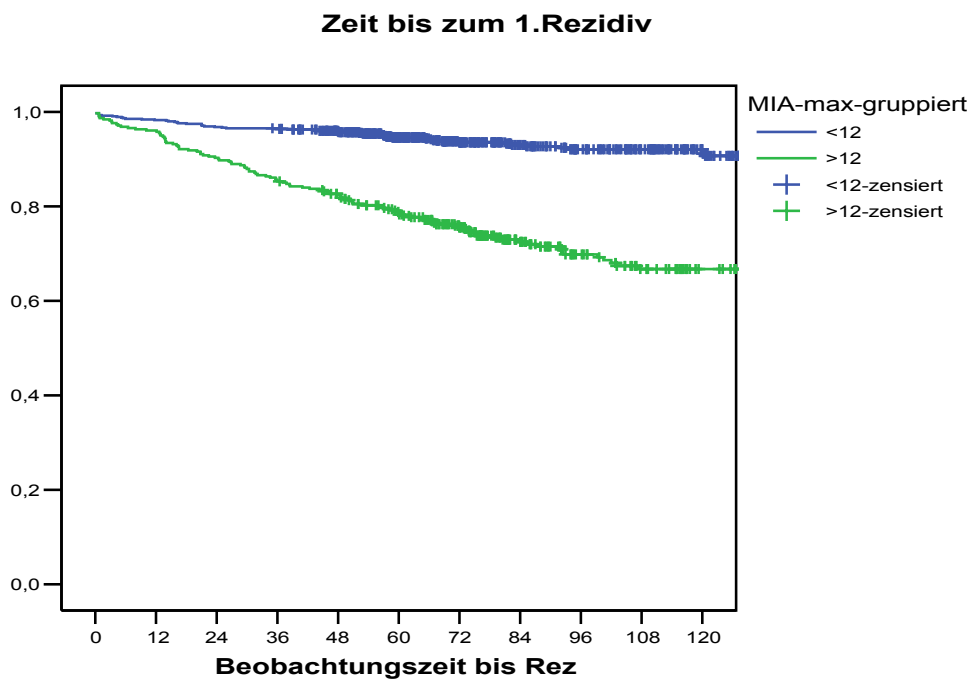


Abbildung 24: Rezidiv in Zusammenhang mit MIA (Beobachtungszeit 120 Monate)

5.2.10 Die Korrelation von MIA mit Lymphknotenmetastasen

Bei der Untersuchung, ob der Tumormarker MIA mit einer Metastasierung der Lymphknoten korreliert, wurden die Patienten, bei welchen eine elektive Lymphknotendissektion (ELND) durchgeführt wurde, getrennt von den Patienten betrachtet, die eine Wächterlymphknotenbiopsie (SLND) erhalten hatten.

Während bei Befall des Wächterlymphknotens nur geringe Unterschiede bei den MIA-Werten auftraten, zeigten die Patienten bei denen die ELND einen Befall der Lymphknoten ergeben hatte, bereits deutlich erhöhte MIA-Werte.

In den beiden folgenden Abbildungen, in denen die 95%igen Konfidenzintervalle aufgetragen wurden, zeigen sich die Unterschiede deutlich. Hier fällt auf, dass die MIA-Werte bei den Patienten mit positiven Wächterlymphknoten alle im Normbereich, also unterhalb des Cut-off von 12 ng/ml, liegen und nicht signifikant erhöht sind.

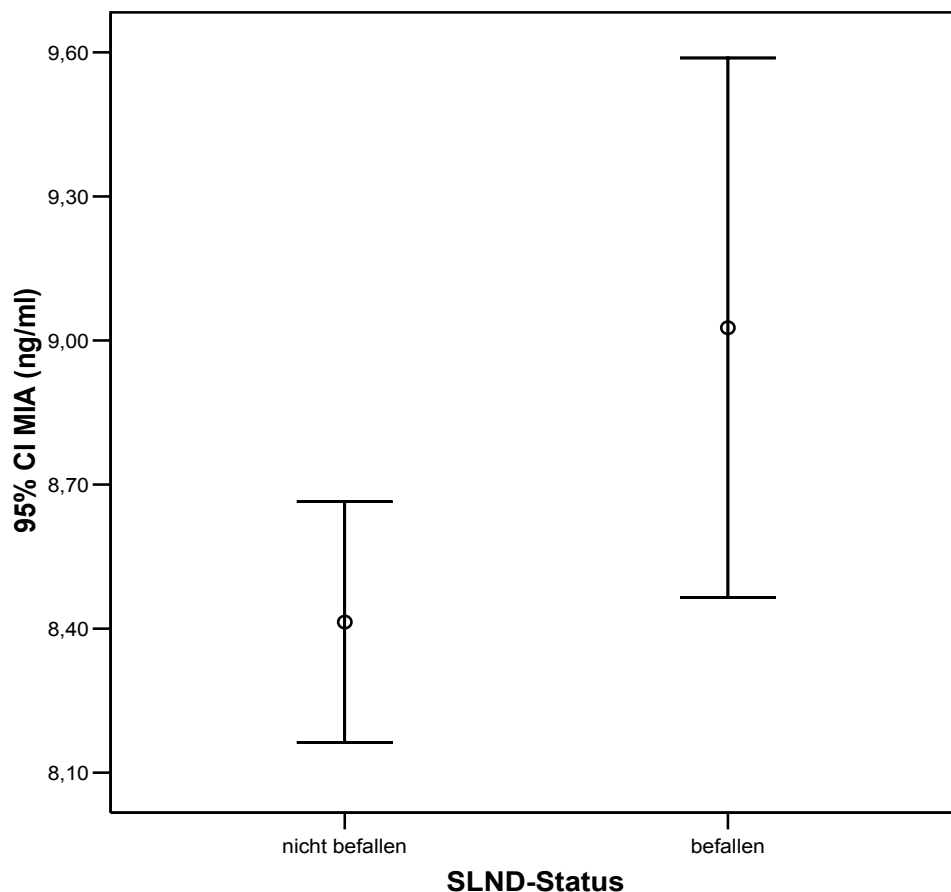


Abbildung 25: MIA-Werte im Zusammenhang mit dem Status des Wächterlymphknotens

In Abbildung 26 ist zu sehen, dass die MIA-Werte deutlich mit dem Status der ELND korrelieren. Sie sind signifikant erhöht bei Patienten, in deren Lymphknoten Metastasen gefunden wurden.

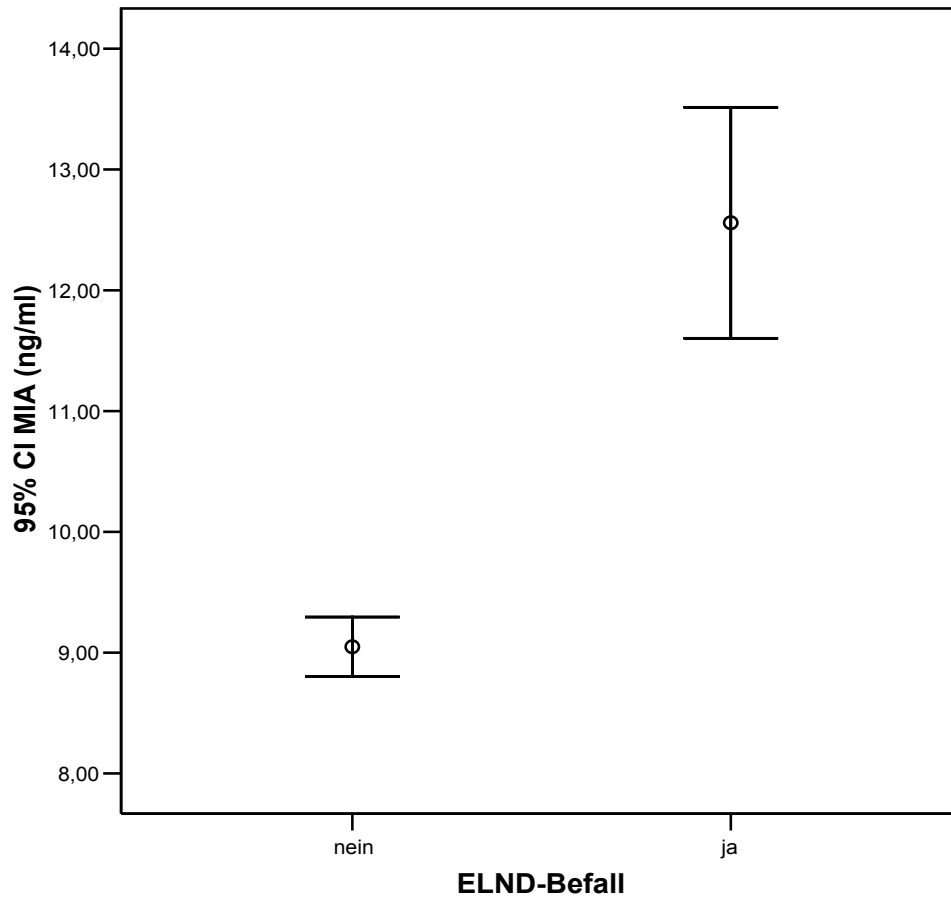


Abbildung 26: MIA-Werte und Lymphknotenbefall bei der ELND

Um die Genauigkeit und Aussagekraft von MIA noch weiter herauszuarbeiten, wurden die Werte des Tumormarkers MIA in Verbindung mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten betrachtet.

Hierbei zeigte sich eine signifikante Erhöhung der MIA-Werte ($p=0,024$), sobald drei oder mehr Lymphknoten von Metastasen des malignen Melanoms befallen sind.

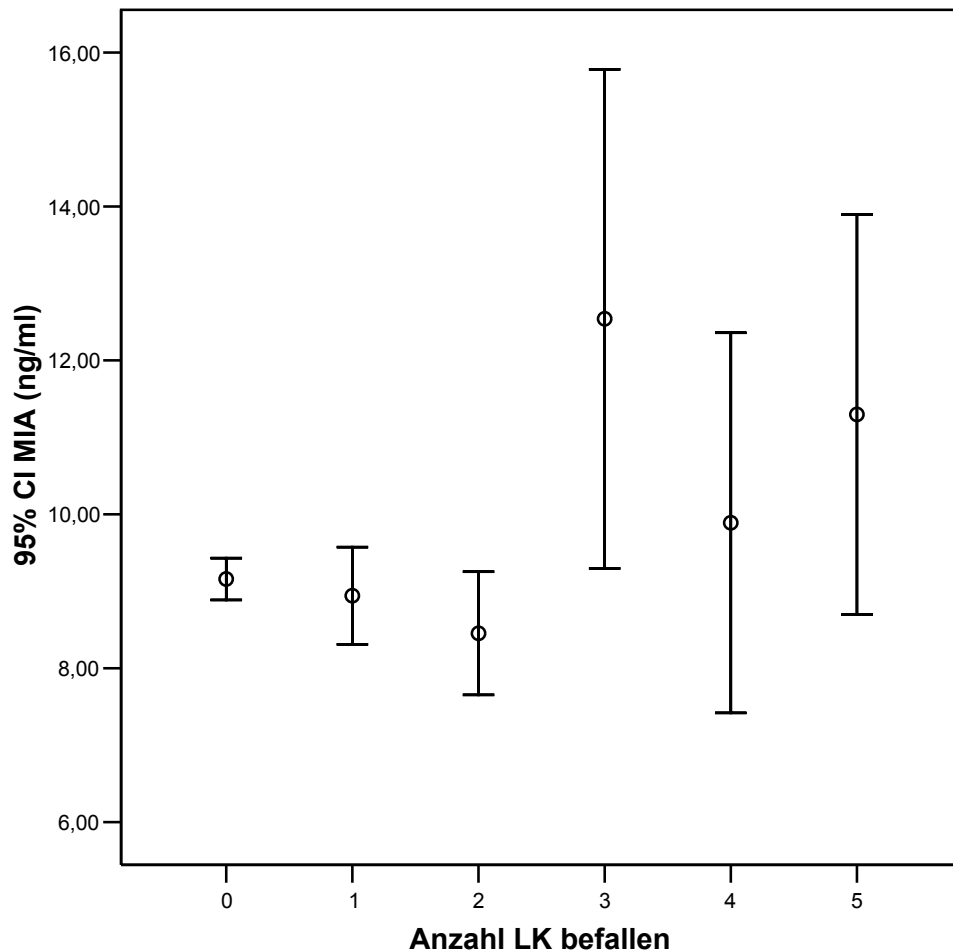


Abbildung 27: MIA-Werte in Zusammenhang mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten

5.2.11 MIA versus LDH

In diesem Kapitel werden die Unterschiede zwischen der melanoma inhibitory activity (MIA) und dem Enzym Laktatdehydrogenase (LDH) dargestellt.

Wie bereits erwähnt, waren nicht alle untersuchten Patienten zu Beginn der Studie im Stadium III nach AJCC 1997 erkrankt, sondern gingen zum Teil später in dieses Krankheitsstadium über oder erreichten noch später das Stadium IV. Daher erfolgte die Auswertung auch hier nach Stadien:

Stadium	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standard- fehler	95%-Ci für Mittelwert		Min.	Max.
					Min.	Max.		
MIA								
la	1	5,2	----	----	----	----	5,2	5,2
lb	9	9,6	7,7	2,6	3,7	15,5	1,5	24,8
Ila	51	8,4	4,5	0,6	7,1	9,7	3,3	24,3
IIb	10	7,0	1,9	0,6	5,6	8,3	4,7	10,7
IIIa	201	9,4	5,1	0,4	8,7	10,2	1,6	40,0
IIIb	948	9,4	8,0	0,3	8,9	9,9	0,7	66,2
IV	226	17,3	14,9	1,0	15,3	19,3	1,0	85,6
Gesamt	1446	10,6	9,4	0,2	10,1	11,1	0,9	85,6
LDH								
la	0	----	----	----	----	----	----	----
lb	0	----	----	----	----	----	----	----
Ila	12	161,3	31,7	9,1	141,1	181,4	127	251
IIb	0	----	----	----	----	----	----	----
IIIa	111	171,7	52,3	5,0	161,8	181,5	26	316
IIIb	512	175,6	82,4	3,6	168,5	182,8	48	1200
IV	99	264,9	340,7	34,2	197,0	332,8	76	2770
Gesamt	734	186,8	147,1	5,4	176,2	197,5	26	2770

Tabelle 20: Berechnung MIA versus LDH

LDH:

ROC-Kurve

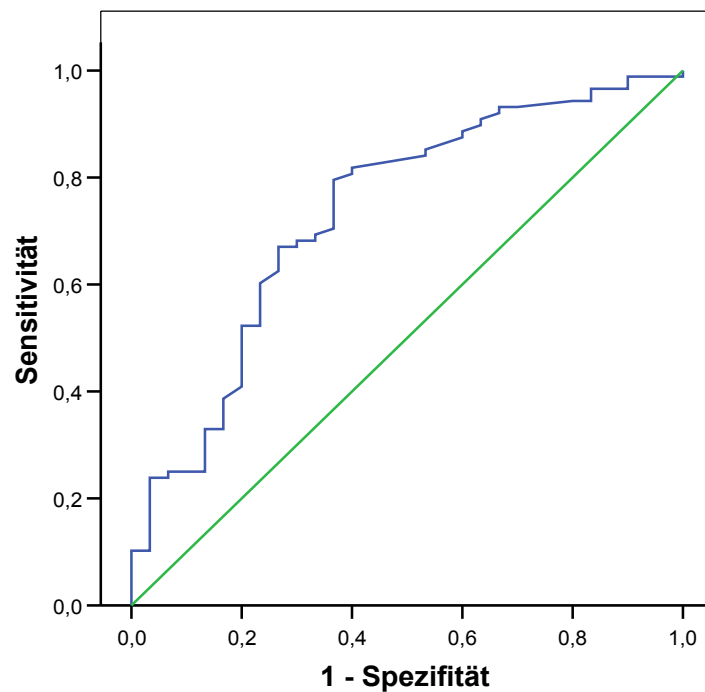


Abbildung 28: ROC-Kurve LDH nach Stadium

Bei der patientenbezogenen Berechnung der Receiver Operating Characteristic-Kurve für LDH konnten nur 118 Patienten und wesentlich weniger Werte (734) betrachtet werden als bei der Berechnung von MIA (1446), da die Bestimmung von LDH nicht routinemäßig erfolgte.

MIA:

ROC-Kurve

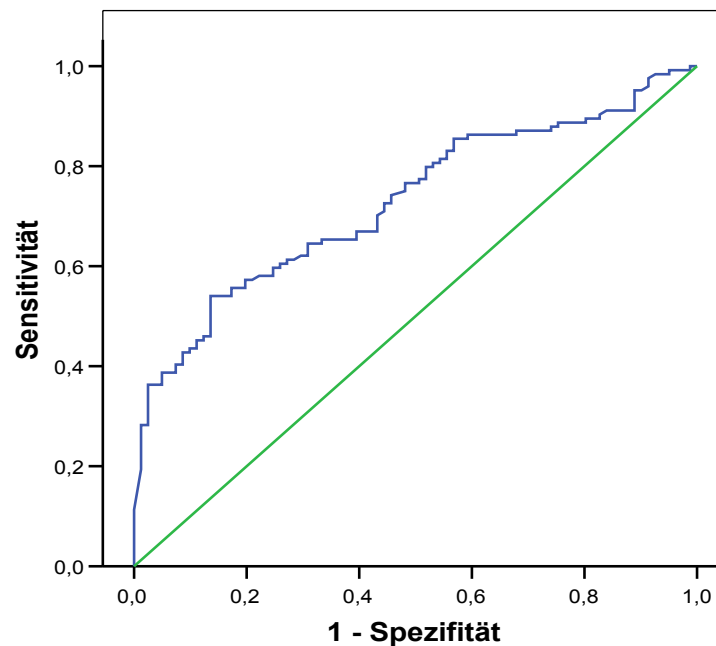


Abbildung 29: ROC-Kurve MIA nach Stadium

Betrachtet man die beiden Receiver Operator Characteristic-Kurven, so ist kein großer Unterschied zu sehen. Betrachtet man jedoch nur die Werte des Stadiums III, welche im Zusammenhang mit einem Rezidiv stehen, so ergibt sich ein deutlicher Unterschied, wengleich auch dieser nicht signifikant ist.

ONEWAY ANOVA

		Quadrat-summe	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
LDH	Zwischen den Gruppen	6159,924	1	6159,924	1,017	,314
	Innerhalb der Gruppen	3761856	621	6057,739		
	Gesamt	3768016	622			
MIA (ng/ml)	Zwischen den Gruppen	160,531	1	160,531	2,778	,096
	Innerhalb der Gruppen	66282,489	1147	57,788		
	Gesamt	66443,020	1148			

Tabelle 21: Berechnung von LDH und MIA in Zusammenhang mit einem Rezidiv im Stadium III

5.2.12 Überlebenszeit

Um die Berechnungen möglichst genau zu halten, erfolgte vor der endgültigen statistischen Auswertung der Überlebenszeit ein Abgleich mit dem Krebsregister und der Sterbedatenbank Berlin. So konnten auch Patienten, die verzogen waren oder durch andere Ursachen verstorben waren, korrekt erfasst werden.

Die folgenden Tabellen zeigen die Daten der Überlebenszeiten in Prozent. Hier wurden alle 206 Patienten getrennt nach Geschlecht und Anfangstadium beobachtet, auch wenn sie erst im weiteren Verlauf in das Tumorstadium III übergegangen sind.

Männer:

Stadium	Gesamtzahl	Zahl der Ereignisse	Prozent
I	13	2	84,6
II	50	16	68,0
III	40	10	75,0
Gesamt	103	28	72,8

Tabelle 22: 10-Jahres-Überlebens-Rate (männlich)

Frauen:

Stadium	Gesamtzahl	Zahl der Ereignisse	Prozent
I	17	5	70,6
II	54	14	74,1
III	32	8	75,0
Gesamt	103	27	70,8

Tabelle 23: 10-Jahres-Überlebens-Rate (weiblich)

Bei der 10-Jahres-Überlebens-Rate der untersuchten Patienten mit malignem Melanom fällt auf, dass die Männer eine leicht höhere Überlebensquote als die Frauen aufweisen. Dieses Ergebnis deckt sich nicht mit anderen Studien, in denen größere Patientenkollektive untersucht wurden. ⁽⁹³⁾

Zur Verdeutlichung der Datenlage ist hier das kumulative Überleben der ersten 10 Jahre aller Patienten getrennt nach Geschlecht als Grafik dargestellt.

Überlebensfunktionen

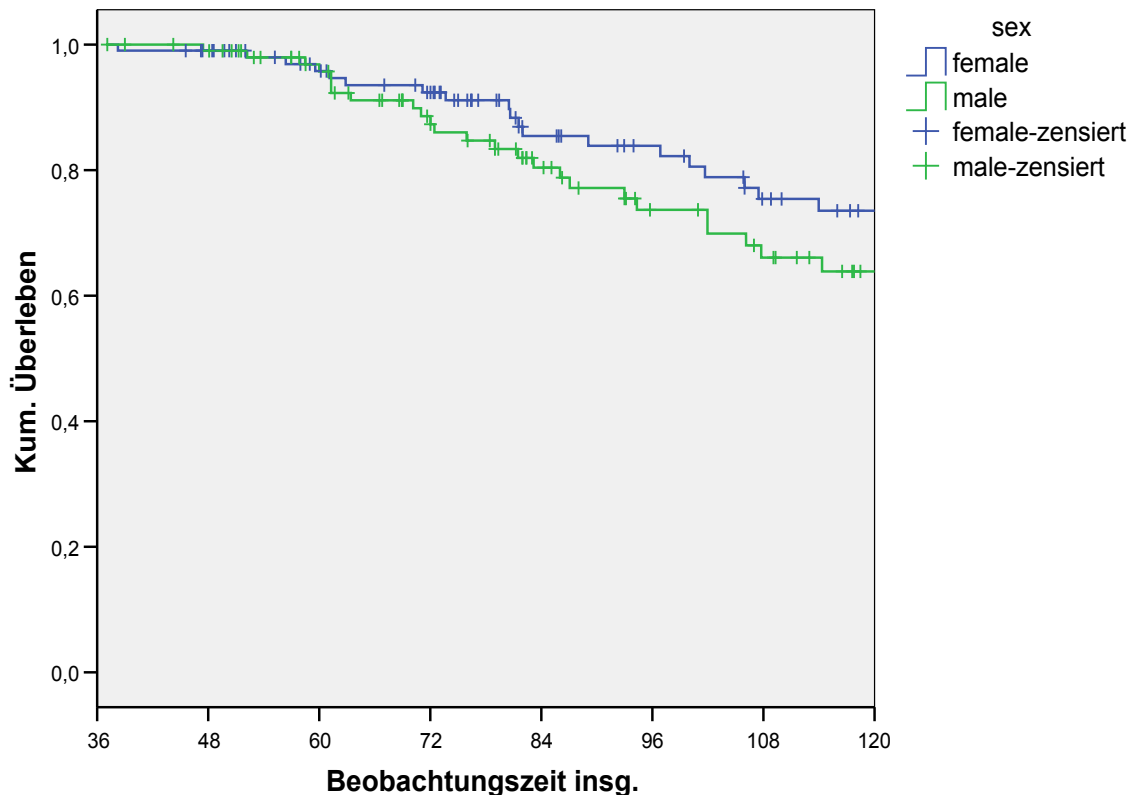


Abbildung 30: Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten (n=206) getrennt nach Geschlecht (Zeitraum 120 Monate)

Festzuhalten ist, dass in den ersten drei Jahren niemand verstorben ist. Hierzu wurde nur mit den Fällen gerechnet, die sich bei Erstdiagnose bereits im Stadium III befanden. Die Fälle mit den Ausgangstadien I und II haben eine noch bessere Überlebensrate. Diese guten Ergebnisse der 10-Jahres-Überlebensrate gegenüber der gängigen Literatur werden in der Diskussion näher erläutert.

Beobachtungszeit	Gesamtüberleben
bis 3 Jahre	100 %
4 Jahre	99 %
5 Jahre	95 %
6 Jahre	90 %
7 Jahre	83 %
8 Jahre	79 %
9 Jahre	71 %
10 Jahre	69 %

Tabelle 24: Gesamtüberleben in Prozent nach Jahren

Überlebensfunktion

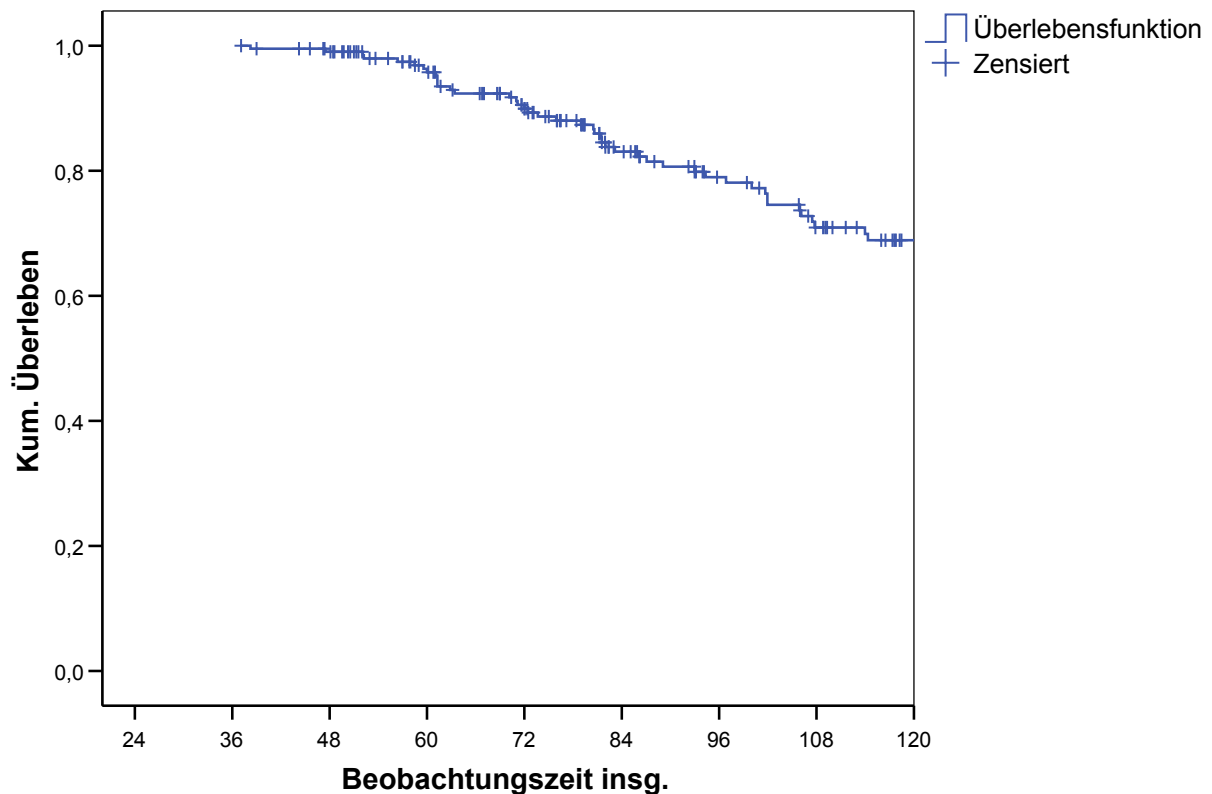


Abbildung 31: Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten (n=206) (Zeitraum 120 Monate)

5.2.13 Zusammenhang der Überlebenszeit mit MIA

In der folgenden Kaplan Meier Kurve sind die Überlebenskurven aller Patienten getrennt nach den MIA-Werten dargestellt. Je nachdem, ob die MIA-Werte unter dem festgelegten Cut-off von 12 ng/ml lagen oder darüber, wurden sie in verschiedene Gruppen aufgeteilt. Die markierten Ereignisse stellen Rezidive dar.

Die Abbildung zeigt, dass Patienten mit MIA-Werten ≤ 12 ng/ml deutlich weniger Rezidive bekommen und eine bessere 10-Jahres-Überlebensrate haben als die Patienten mit einem MIA-Wert über 12 ng/ml.

Überlebensfunktionen

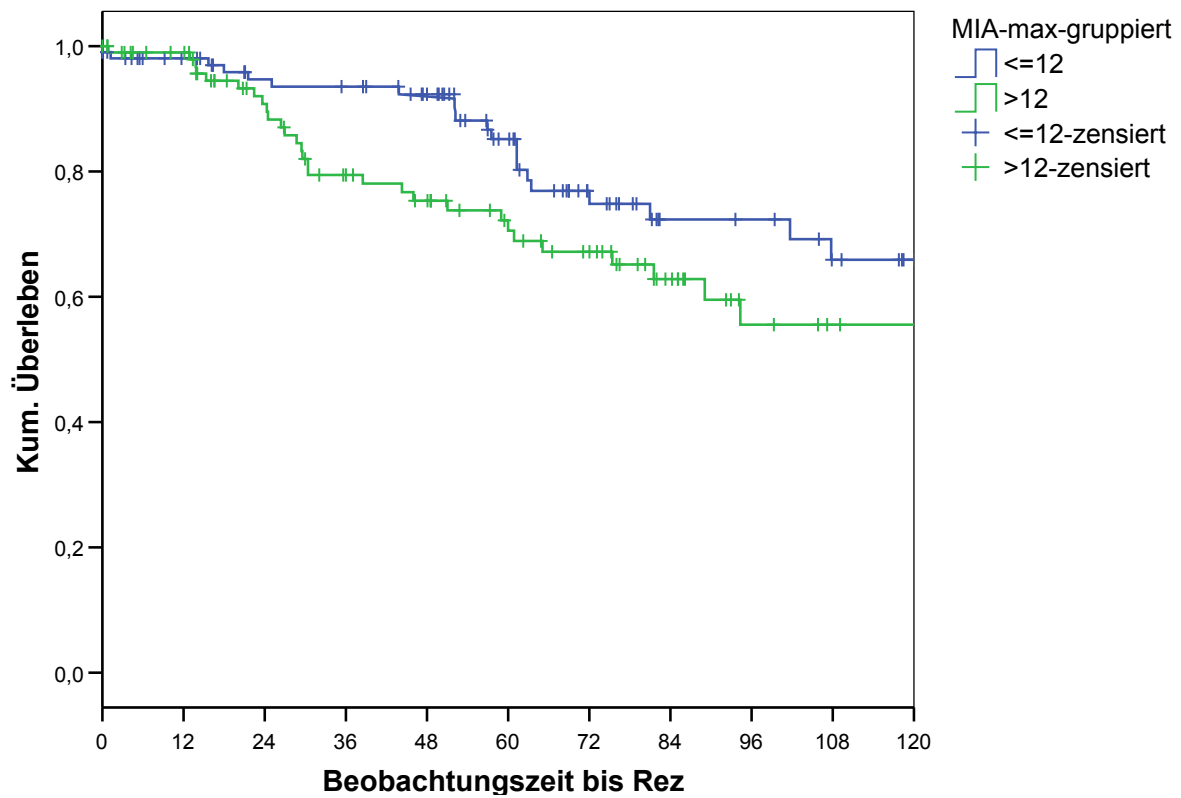


Abbildung 32: Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten im Zusammenhang mit dem Tumormarker MIA (Zeitraum 120 Monate)

6 Diskussion

Die Inzidenz des malignen Melanoms hat sich in den letzten 50 Jahren weltweit verzehnfacht. In Europa liegt Dänemark mit ca. 13 Melanomerkrankungen pro 100.000 Einwohner in der Inzidenz mit an der Spitze, Griechenland mit ca. 3 Melanomerkrankungen pro 100.000 Einwohner am Ende. ⁽²⁾

Auch in den USA gibt es große regionale Schwankungen der Häufigkeit. Diese bewegen sich hier zwischen 10 und 20 Erkrankungen pro 100.000 Menschen pro Jahr. In Australien findet sich weltweit die höchste Inzidenz des malignen Melanoms mit 40-60 Melanomen pro 100.000 Einwohner pro Jahr. ^(93, 94)

Diese Entwicklung führt unweigerlich zu massiv erhöhten Patientenzahlen in den Melanom-Ambulanzen der Kliniken. Die Anzahl der Patienten, die sich in der Tumornachsorge befinden, steigt ebenfalls immer weiter, so dass es sowohl zu wirtschaftlichen als auch zu organisatorischen Herausforderungen kommt.

Um dieser Entwicklung gerecht zu werden, müssen auch die Nachsorgekonzepte für das maligne Melanom stetig weiterentwickelt werden.

Da die Melanomnachsorge durch aufwendige Untersuchungen geprägt ist und auch umfangreiche bildgebende Verfahren beinhaltet, welche zum Teil nur durch wenige, hoch spezialisierte Ärzte ausgewertet werden können, ist der Wunsch nach einer einfachen, kostengünstigen und aussagekräftigen Untersuchung entsprechend groß. Dabei zu berücksichtigen sind zusätzlich die psychischen und körperlichen Belastungen, unter denen die Patienten bei jedem Nachsorgetermin stehen. Hier bietet sich ein standardisierter Tumormarker mit ausreichender Aussagekraft und einem kommerziell erhältlichen Testsystem an.

Die Aussagekraft des Tumormarkers MIA (melanoma inhibitory activity) wurde inzwischen in mehreren Studien untersucht. Der Nutzen scheint nur bei den höheren Tumorstadien (Stadium III und IV) gegeben zu sein. Im Stadium I und II des malignen Melanoms ist die Sensitivität für MIA zu gering, um daraus eine Tendenz des Erkrankungsverlaufes ableiten zu können. ⁽⁹⁵⁾

Im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit wurde an einem Patientenkollektiv der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité der Nutzen des Tumormarkers MIA zur Tumordiagnostik, Melanomnachsorge und als Verlaufsparemeter der Therapie bei malignen Melanomen im Tumorstadium III (nach AJCC 1997) untersucht.

Erfasst und ausgewertet wurden 2094 MIA Serumproben von 206 Patienten, welche sich im Stadium III des malignen Melanoms befanden. Die Serumproben der Patienten wurden mittels des kommerziell erhältlichen MIA-ELISA der Firma Roche Diagnostics bestimmt. Die Bestimmung erfolgte jeweils ohne Kenntnis des klinischen Stadiums oder des Metastasierungsgrades. Die MIA-Werte wurden retrospektiv aus den Krankenakten von 103 Männern und 103 Frauen erfasst, die zu einem Zeitpunkt der Behandlung in der Charité das Melanomstadium III aufwiesen. Diese Daten stammen aus den Jahren 1992 bis 2003. Das paritätische Verhältnis von Frauen und Männern in dieser Untersuchung ist Zufall.

Zusätzlich wurde eine Kontrollgruppe aus 313 gesunden Probanden gewonnen, deren MIA-Werte zur Berechnung des Cut-off benutzt wurden. Der Cut-off wurde bei der 97,5%igen Perzentile festgelegt, was einem MIA-Wert von 11,93 ng/ml entspricht. Dieser wurde gerundet, womit der Grenzwert bei 12 ng/ml liegt. Vor einigen Jahren waren auch kleinere Werte von beispielsweise 8,8 ng/ml gebräuchlich, welche aber im Laufe der Zeit weiter nach oben korrigiert werden mussten.

Das Patientenkollektiv war zwischen 20 und 88 Jahren alt, der Median lag bei 54,9 Jahren. Diese Patientengruppe entspricht der in der gängigen Literatur für die Normalbevölkerung angegebenen Alters- und Geschlechterverteilung. (^{3,7})

Bei der Verteilung der Melanomarten im untersuchten Patientenkollektiv gibt es einige auffällige Abweichungen zum Gesamtschnitt der deutschen Bevölkerung. Während in der Zentralen Melanomdatenbank (⁷) der Anteil der Patienten, die an einem superfiziell spreitendem Melanom (SSM) erkrankten, bei 57,4% und der Anteil der nodulären Melanome (NM) bei 21,4% lagen, war bei unserer Gruppe der Anteil der nodulären Melanome mit 29,6% deutlich höher und der Anteil der superfiziell spreitenden Melanome mit 46,3% entsprechend niedriger. Die Erklärung hierfür liegt wahrscheinlich

darin, dass im Zentralregister die Melanome aller Stadien verzeichnet werden, wohingegen in dieser Arbeit nach Stadien selektiert worden ist. Weil das noduläre Melanom schneller in die vertikale Wachstumsphase eintritt und somit früher metastasiert, ist es nicht ungewöhnlich, dass innerhalb einer Gruppe von Patienten des Melanomstadiums III das noduläre Melanom gehäuft auftritt. Da es sich bei der Hautklinik der Charité um ein großes Zentrum für die Melanombehandlung handelt, werden zudem möglicherweise vermehrt Patienten mit größeren Eindringtiefen überwiesen. Die Abweichungen der Daten bei den akral-lentiginösen Melanomen (ALM) und den lentigomalignen Melanomen (LMM) sind aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant.

Die Lokalisation der Melanome in Bezug zum Geschlecht deckt sich mit den bislang publizierten Daten. Die Patientinnen weisen einen signifikant höheren Anteil der Melanome an den Extremitäten auf, wogegen das Auftreten von Melanomen am Körperstamm bei Männern häufiger ist. Auffällig ist zudem, dass die Patienten mit Melanomen an den Extremitäten im Durchschnitt 6 Jahre älter sind als die Patienten, die an Melanomen am Körperstamm erkranken.

Bei der Untersuchung des Clark Level fällt auf, dass sich über 75% der Patienten schon im Clark Level 4 befinden. Die Erklärung hierfür liegt an der Selektion, die bei der Berechnung durchgeführt wurde. Nicht eingeschlossen wurden hier 130 Patienten, welche sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose (also bei Exzision und Histologie des Tumors) erst im Stadium I oder II (nach AJCC 1997) befunden haben. Diese Patienten erreichten durch Tumorprogression und Metastasen erst später das Stadium III. Zudem verliert der Clark Level gegenüber der Eindringtiefe nach Breslow zunehmend an Bedeutung.

Die Betrachtung der Eindringtiefe des Tumors nach Breslow ist weitaus aufschlussreicher. Hier fällt bei unserer Patientengruppe auf, dass die Eindringtiefe (in mm) nach Breslow im Stadium IIb am höchsten ist. Also sind diese Melanome tiefer eingedrungen als im Stadium III. Der Verdacht, dass dieser Sachverhalt mit der hohen Anzahl der nodulären Melanome in unserem Kollektiv verknüpft ist, bestätigte sich. Bei der getrennten Betrachtung der 94 superfiziell spreitenden Melanome und der 60 nodulären

Melanome stellte sich der Unterschied dieser beiden Melanomarten noch eindeutiger dar.

Die mittlere Eindringtiefe des superfiziell spreitenden Melanoms in unserem Kollektiv beträgt 2,4 mm, wohingegen das noduläre Melanom mit durchschnittlich 4,6 mm fast doppelt so tief in die Haut eingedrungen war. Dies resultiert möglicherweise auch aus dem aggressiven und schnellen Tiefenwachstum des nodulären Melanoms.

Die Verteilung der MIA-Werte (dargestellt in Abbildung 22, S. 48) sieht auf den ersten Blick untypisch aus. Der Mittelwert ist im Stadium Ib mit 9,6 ng/ml höher als im Stadium IIa, wo er bei 8,4 ng/ml liegt. Er ist sogar etwas höher als in den Stadien IIIa und IIIb, wo er nur 9,4 ng/ml beträgt. Zusätzlich fällt auf, dass die durchschnittlichen MIA-Werte in allen Stadien außer in Stadium IV unterhalb des berechneten Cut-off von 12 ng/ml liegen. Dies erklärt sich dadurch, dass es sich um 1446 MIA-Werte von 206 Patienten handelt, viele MIA-Werte also von ein und demselben Patienten stammen. Zudem war die Häufigkeit und Verteilung der Blutabnahmen bei den Patienten sehr unterschiedlich. Von einigen Patienten gab es bis zu 20 Kontrollen des Tumormarkers, bei anderen nur eine. In den einzelnen Stadien, in denen sich die Patienten befanden, wurden auch die Nachsorgetermine unterschiedlich häufig durchgeführt. Hinzu kommt, dass die MIA-Werte hier insgesamt betrachtet werden, also ohne Bezug zu Zeit oder zu Therapie. Teilweise waren die Patienten bei vielen MIA-Abnahmen schon operiert bzw. therapiert. Die Abbildung 23 (S. 49) mit den 95%igen Konfidenzintervallen macht die Streuung der Werte sichtbar. Während die MIA-Werte im Stadium III sehr eng beieinander liegen, ist die Streuung in den Stadien I und II deutlich größer. Dies zeigt indirekt auch schon die geringere Sensitivität des Tumormarkers MIA gegenüber seiner Spezifität.

Zu den Berechnungen der Sensitivität und der Spezifität wurde der Cut-off ermittelt. Dazu wurde die gesunde Vergleichsgruppe benutzt. Bei der 97,5%igen Perzentile lag der MIA-Wert bei 11,93 ng/ml. In anderen Melanomzentren ist mittlerweile der auch in der Charité benutzte Cut-off von 12 ng/ml gebräuchlich.

Die wichtigsten Kennzahlen für die Qualität eines Tumormarkers in der klinischen Anwendung sind Sensitivität, als Ausdruck der Fähigkeit richtig positive Ergebnisse zu liefern, und Spezifität, als Maß für den Anteil an richtig erkannten negativen Befunden.

In der vorliegenden Untersuchung ergibt sich in der Gesamtheit der untersuchten Werte eine Sensitivität von 49% bei einer Spezifität von 98%.

Um die Tauglichkeit des MIA-Serumwertes zur Rezidiverkennung der Patienten der Tumorstadien I-III zu berechnen, wurden alle Patienten außen vor gelassen, die während der Beobachtungszeit frei von Rezidiven waren. Hier erhält man bei gleicher Spezifität eine Sensitivität von 62%. Das bedeutet, dass bei 62% der Patienten mit erhöhten MIA-Werten tatsächlich eine Metastase vorgelegen hat.

Bei alleiniger Betrachtung der Patienten, welche das Stadium III schon vor der ersten MIA-Abnahme erreicht hatten, ergab sich bei einer Spezifität von 98% sogar eine Sensitivität von 68%. Somit erweisen sich die Serumwerte der melanoma inhibitory activity tatsächlich als verlässlicher Parameter auf der Suche nach Metastasen im Stadium III des malignen Melanoms. Aufgrund der Datenlage war es in dieser Studie leider nicht möglich, eine Unterscheidung von lokoregionären Rezidiven zu Fernmetastasen herauszuarbeiten.

Umgekehrt kann man zur Bestätigung auch den zeitlichen Verlauf der Melanomerkrankung und den maximalen MIA-Wert der Patienten betrachten. Hierdurch wird sichtbar, dass ein oder mehrere MIA-Serumwerte über dem Grenzwert von 12 ng/ml nicht nur ein erhöhtes Risiko für ein Rezidiv bedeuten, sondern die Patienten dieses Rezidiv auch früher bekommen. Somit kann auch das Risiko einer früheren Progression der Erkrankung durch den Tumormarker MIA angezeigt werden.

Es wäre zu diskutieren, ob ein erhöhter MIA-Wert Anlass sein sollte, die folgenden Staging-Termine in engeren zeitlichen Abständen als bisher üblich zu legen.

Bei der Untersuchung der Lymphknoten korrelierten die MIA-Werte nur in der ELND mit dem Befall mit Tumorzellen. Bei der SLND blieben die MIA-Werte trotz Metastasen in den Wächterlymphknoten unter dem festgelegten Cut-off von 12 ng/ml.

Um die Genauigkeit und Aussagekraft von MIA noch weiter herauszuarbeiten, wurden die Werte des Tumormarkers MIA in Verbindung mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten betrachtet. Hierbei zeigt sich eine signifikante Erhöhung von MIA bei drei oder mehr befallenen Lymphknoten. Daraus lässt sich folgern, dass MIA nicht geeignet ist, eine Metastasierung des Wächterlymphknotens zu erkennen, aber durchaus in der Lage ist eine fortgeschrittene Metastasierung im Lymphabstromgebiet anzuzeigen. Im

Widerspruch zu unseren Ergebnissen steht eine Studie, die MIA als einen idealen Test zum Screening des Wächterlymphknotens sieht. ⁽⁹⁶⁾ Weitere Untersuchungen könnten zeigen, ob MIA-Werte eine Entscheidungshilfe über das operative Vorgehen geben können. Für die Detektion von Metastasen im Sentinellymphknoten dürfte momentan die Lymphknotenultraschalluntersuchung als sensitivste Methode im Rahmen der Tumornachsorge gelten. ^(97, 98)

Beim Vergleich des Tumormarkers MIA mit dem Enzym Laktatdehydrogenase (LDH) ergab die Auswertung anhand der Tumorstadien keine richtungsweisenden Ergebnisse. Die Unterschiede bezüglich der Sensitivität und der Spezifität waren marginal. Bei isolierter Betrachtung der Patienten, die im Stadium III ein Rezidiv bekamen, ergab sich zwar ein deutlicher Unterschied, der jedoch statistisch nicht signifikant war. Anders als in der vorliegenden Untersuchung, steigt LDH laut der gängigen Literatur nur im Tumorstadium IV an. ^(17, 50)

Die widersprüchlichen Ergebnisse meiner Arbeit gegenüber anderen Quellen sind durch mehrere Faktoren zu erklären: Zum einen konnten bei der patientenbezogenen Berechnung der Receiver Operator Characteristic-Kurve für LDH nur 118 Patienten mit 734 Werten betrachtet werden, da LDH in der Dermatologie der Charité bei malignen Melanomen kein Routineparameter ist. Beim Tumormarker MIA hingegen standen mit 1446 Werten fast doppelt so viele Serumproben zur Verfügung.

Betrachtet man die Abbildung 22 (S. 48), so fällt auf, dass die MIA-Werte zwar mit den Stadien ansteigen, aber außer im Stadium IV unterhalb des Grenzwertes von 12 ng/ml bleiben. Hier wird jedoch die Gesamtheit der zur Verfügung stehenden MIA-Werte betrachtet, unabhängig von Therapie und Abnahmezeitpunkt.

Hinzu kommt, wie bereits erwähnt, dass unterschiedlich viele MIA-Abnahmen bei den Patienten erfolgten. Folglich werden hier auch die häufigen postoperativen Staging-Untersuchungen abgebildet, bei denen der MIA-Wert teilweise zur Therapiekontrolle wird. Diese Werte verfälschen die Ergebnisse vermutlich nach unten. Die Berechnungen zeigen, dass die unspezifische Erfassung von MIA- und LDH-Werten keinen Beitrag zur frühzeitigen Erkennung eines Rezidivs hat. Dazu fehlt die zeitliche Korrelation zwischen dem Auftreten des Rezidivs und der Bestimmung der MIA-Werte. Während andere Untersuchungen den Tumormarker MIA in der Therapiekontrolle (z.B.

postoperativ) sehr kritisch sehen, (⁹⁹) lässt die Datenlage in dieser Studie keine Schlussfolgerung über den Einsatz von MIA als Therapiemonitor zu.

Genauer zu untersuchen wäre, ob sich die Erhöhung von MIA wie vermutet als signifikant erweist, wenn man nur die MIA- und LDH-Werte benutzt, die im gleichen Zeitintervall zum Rezidiv ermittelt wurden. Anhand der zur Verfügung stehenden Daten war die zeitliche Einordnung der LDH-Bestimmungen leider nicht in jedem Fall möglich.

Bei den Berechnungen zur Prognose und Überlebenswahrscheinlichkeit zeigen sich große Unterschiede zu anderen Arbeiten. Während die 10-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit in der gängigen Literatur bei Patienten mit Satelliten- und In-transit-Metastasen zwischen 30-50 % und bei Patienten mit klinisch manifesten regionären LK-Metastasen zwischen 20-40 % liegt (^{1,7}), ist sie im untersuchten Patientenkollektiv deutlich höher. Die 10-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit liegt bei unserem Kollektiv bei 69%. Die üblichen Unterschiede der Geschlechter lassen sich nicht so deutlich herausarbeiten. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Männer ist 2% höher als die der Frauen. Dieses Ergebnis deckt sich nicht mit Studien deren Fallzahl größer ist. Üblicherweise ist hier die Überlebenswahrscheinlichkeit der Frauen größer.

Die etwas höhere Quote des Überlebens ist darin begründet, dass die Überlebenskurven für eine sehr ausgewählte Stichprobe berechnet wurden. Es liegt insofern eine starke Selektion vor, da nur die Fälle in die Studie kamen, die zum damaligen Zeitpunkt noch lebten. Bei vielen Patienten, die rasch nach Erstdiagnose in das Stadium IV übergegangen waren und an den Folgen der Fernmetastasierung verstorben sind, wurde kein Tumormarker bestimmt. Außerdem ist die Prognose bei einem malignen Melanom nicht nur vom Stadium abhängig, sondern richtet sich vielmehr nach Geschlecht, Eindringtiefe nach Breslow, Clark Level, Lokalisation und histologischem Subtyp. Auch bei diesen Parametern entspricht das in dieser Studie untersuchte Kollektiv natürlich nicht genau einem typischen Melanomkollektiv.

Bei der Gruppierung der Patienten mit MIA-Werten über und unter dem Grenzwert von 12 ng/ml bestätigt sich die Erkenntnis aus neueren Studien, dass sich die melanoma inhibitory activity dazu eignet, die Prognose von Patienten abzuschätzen. (^{100,101,102})

Hier ist zu sehen, dass Patienten mit einem oder mehreren MIA-Werten über 12 ng/ml früher und häufiger ein Rezidiv bekommen, als die Patienten mit MIA-Werten unter dem Grenzwert. Zudem liegt ihre mittlere Überlebenszeit deutlich unter der Gruppe der Patienten mit MIA-Werten im Normbereich.

Somit ist der Tumormarker MIA als diagnostisch und prognostisch relevanter Tumormarker im Stadium III bei malignem Melanom anzusehen. Er lässt sich sowohl in der Verlaufskontrolle als auch in der Melanomnachsorge im Stadium III anwenden.

7 Zusammenfassung

Das maligne Melanom ist seit Jahren der maligne Tumor mit der am schnellsten wachsenden Inzidenz weltweit. Jährlich erkranken in Deutschland etwa 14.900 Menschen an einem Melanom. Aufgrund einer derartigen Inzidenzentwicklung ist es dringend notwendig, diesem bösartigen und frühzeitig metastasierenden Malignom weiterhin größte Aufmerksamkeit zukommen zu lassen. In den letzten Jahren wurden mehrere Tumormarker für das maligne Melanom etabliert. In der Klinik für Dermatologie der Charité ist der Tumormarker MIA (melanoma inhibitory activity) seit vielen Jahren in der Tumornachsorge in Verwendung. Im Rahmen dieser retrospektiven Studie sollte an einem Patientenkollektiv der Klinik für Dermatologie der Charité die Aussagekraft von MIA überprüft werden. Im Vordergrund standen die Eignung zur Detektion von Metastasen, die Aussagekraft in der Nachsorge und die prognostische Wertigkeit für den Krankheitsverlauf.

Hierzu wurden 206 Patienten der Klinik für Dermatologie der Charité untersucht, die an einem malignen Melanom im Stadium III erkrankt waren. Diese Patienten befanden sich in den Jahren 1992 – 2003 in der Hautklinik der Charité in Behandlung. Statistisch ausgewertet wurden 2094 MIA-Serumwerte, die bei diesen Patienten im Verlauf ihrer Erkrankung bestimmt worden waren. Zusätzlich wurden die wichtigsten klinischen und histologischen Parameter sowie der Verlauf der Erkrankung und deren Therapie erfasst. Die Zielsetzung dieser Studie war die Untersuchung eines möglichen klinischen Nutzens des Tumormarkers MIA.

Mit Hilfe einer Normalgruppe von 313 Nicht-Melanompatienten wurde der Cut-off von MIA bei 12 ng/ml festgelegt. Bei allen Patienten im Stadium III ergab sich eine Sensitivität von 49% bei einer Spezifität von 98%. Differenzierte man und betrachtete die Werte nach dem Stadium zum Zeitpunkt der Erkrankung (Primärstadium), so zeigte sich bei gleicher Spezifität sogar eine Sensitivität von 68%. Somit kann MIA als zuverlässiger Marker beim malignen Melanom im Stadium III bestätigt werden.

Bei der Untersuchung der Lymphknoten korrelierten die MIA-Werte nur bei Patienten, die in der ELND einen Befall mit Tumorzellen aufwiesen. Bei der SLND blieben die MIA-

Werte trotz Metastasen im Wächterlymphknoten unter dem festgelegten Cut-off von 12 ng/ml. Um die Genauigkeit und Aussagekraft von MIA noch weiter herauszuarbeiten, wurden die Werte des Tumormarkers MIA in Verbindung mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten betrachtet. Hierbei zeigte sich eine signifikante Erhöhung von MIA bei drei oder mehr befallenen Lymphknoten. Daraus lässt sich folgern, dass MIA nicht geeignet ist, eine Metastasierung des Wächterlymphknotens zu erkennen, aber durchaus in der Lage ist eine fortgeschrittene Metastasierung im Lymphabstromgebiet anzuzeigen. Weitere Untersuchungen könnten zeigen, ob MIA-Werte eine Entscheidungshilfe über das operative Vorgehen geben können.

Bei der Betrachtung von MIA als prognostischem Parameter fiel auf, dass Patienten mit MIA-Serumwerten ≤ 12 ng/ml nicht nur deutlich weniger Rezidive bekamen, sondern dass sich die Metastasen auch später entwickelten. Zusätzlich konnte eine bessere 10-Jahres-Überlebensrate für die Patienten aufgezeigt werden, welche MIA-Werte unterhalb des Cut-off hatten. MIA-Werte oberhalb des Cut-off können also dem Auftreten neuer Metastasen vorangehen und eine Prognoseverschlechterung anzeigen.

Zusammenfassend stellt der Tumormarker MIA einen sinnvollen und verlässlichen Parameter dar, der sowohl in der Tumornachsorge, als auch zur Prognoseabschätzung wertvoll sein kann.

8 Abkürzungsverzeichnis

5-S-CD	5-S-Cysteinyldopa
10-Jür	10-Jahres-Überlebensrate
ABTS-Lösung	2,2'-Azino-di-3-ethylbenz-thiazolinsulfonat
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	Akral-lentiginöses Melanom
BCNU	Bis-chloronitrosourea, Carmustine
BHD	BCNU, Hydroxyurea, Dacarbazine
BOLD	Bleomycin, Oncovin, Lomustine, Dacarbazine
CHO	Chinese Hamster Ovary
Ci	Konfidenzintervall
cm	Zentimeter
DBCT	Dacarbazin, BCNU, Cisplatin, Tamoxifen
DDG	Deutsche Dermatologische Gesellschaft
DNS	Desoxyribunucleinsäure
DVP	Daunorubicin, Vincristine, Prednisone
ELISA	Enzym-Linked Immunosorbent Assay
ELND	Elektive Lymphknotendissektion
HPLC	High-Performance Liquid Chromatographie
kDA	Kilodalton
kum.	kumulativ
LASA-P	Lipid-bound sialic acid
LDH	Lactatdehydrogenase
LK	Lymphknoten
LMM	Lentigo-maligna Melanom
M	Metastase
MAB	Monoklonaler Antikörper
MIA	Melanoma inhibitory activity
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	Messenger-Ribonucleinsäure
n	Anzahl

N	Lymphknoten (nodus)
neg.	negativ
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NM	Noduläres Melanom
NSE	Neuronen-spezifische Enolase
p	Wahrscheinlichkeit
PBS	Phosphat buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
POD	Peroxidase
pos.	positiv
pT	Primärtumor
S-100-β	S-100 Protein mit β-Kette
SLND	Sentinel Lymphknotendisektion
Std. Dev.	Standardabweichung
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
RPM	Rounds per minute
RT- PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
SSM	Superfiziell spreitendes Melanom
TNM	Tumor/Nodus/Metastase
UCM	nicht klassifizierbares Melanom
UICC	Union International Contre le Cancer
μl	Mikroliter

9 **Abbildungsverzeichnis**

<u>Abbildung 1</u>	Vergangenes und derzeitiges Lebenszeitrisko der Entwicklung eines malignen Melanoms für einen Einwohner der USA
<u>Abbildung 2</u>	Superfiziell spreitendes Melanom
<u>Abbildung 3</u>	Noduläres Melanom
<u>Abbildung 4</u>	Lentigo-maligna Melanom
<u>Abbildung 5</u>	Akral-lentiginöses Melanom
<u>Abbildung 6</u>	Neuerkrankungsraten in Deutschland 2002 und 2004
<u>Abbildung 7</u>	Altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität des malignen Melanoms in Deutschland 1980 – 2004
<u>Abbildung 8</u>	Altersverteilung nach Geschlecht
<u>Abbildung 9</u>	Tumordicke nach Breslow
<u>Abbildung 10</u>	Clark-Level
<u>Abbildung 11</u>	Komplementäre DNS-Sequenz des humanen MIA-Proteins
<u>Abbildung 12</u>	Dreidimensionale Struktur des Proteins MIA
<u>Abbildung 13</u>	Die gesunde Kontrollgruppe
<u>Abbildung 14</u>	Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten
<u>Abbildung 15</u>	Verteilung nach Art des Melanoms
<u>Abbildung 16</u>	Verteilung nach Lokalisation
<u>Abbildung 17</u>	Verteilung nach Lokalisation und Geschlecht
<u>Abbildung 18</u>	95% Konfidenzintervall auf Patientenalter
<u>Abbildung 19</u>	Verteilung nach Clark-Level
<u>Abbildung 20</u>	Verteilung nach Breslow
<u>Abbildung 21</u>	95% Konfidenzintervalle für NM und SSM
<u>Abbildung 22</u>	Verteilung der MIA-Werte nach Stadium
<u>Abbildung 23</u>	95%ige Konfidenzintervalle der MIA-Werte
<u>Abbildung 24</u>	Rezidiv in Zusammenhang mit MIA
<u>Abbildung 25</u>	MIA-Werte im Zusammenhang mit dem Status des Wächterlymphknotens
<u>Abbildung 26</u>	MIA-Werte und Lymphknotenbefall bei der ELND
<u>Abbildung 27</u>	MIA-Werte in Zusammenhang mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten

<u>Abbildung 28</u>	ROC-Kurve LDH nach Stadium
<u>Abbildung 29</u>	ROC-Kurve MIA nach Stadium
<u>Abbildung 30</u>	Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten getrennt nach Geschlecht
<u>Abbildung 31</u>	Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten
<u>Abbildung 32</u>	Kaplan Meier Kurve zur Überlebenszeit aller Patienten im Zusammenhang mit dem Tumormarker MIA

10 Tabellenverzeichnis

<u>Tabelle 1</u>	Verteilung klinisch-histologischer Subtypen kutaner maligner Melanome im deutschsprachigen Raum
<u>Tabelle 2</u>	Signifikante morphologische Risikofaktoren
<u>Tabelle 3</u>	Tumorspezifische 10-Jahres-Überlebensrate (10-JÜR) in Abhängigkeit von der vertikalen Tumordicke nach Breslow
<u>Tabelle 4-7</u>	Stadieneinteilung nach dem TNM-System UICC 1997
<u>Tabelle 8</u>	Stadieneinteilung AJCC 2002
<u>Tabelle 9</u>	Exzisionsstrategie im klinischen Stadium des Primärtumors
<u>Tabelle 10</u>	Empfehlungen für die Nachsorge kutaner maligner Melanome
<u>Tabelle 11</u>	Stammdaten der Patienten
<u>Tabelle 12</u>	Verteilung nach Alter, Geschlecht und Art des Melanoms
<u>Tabelle 13</u>	Verteilung nach Lokalisation und Alter
<u>Tabelle 14</u>	Eindringtiefe für NM und SSM
<u>Tabelle 15</u>	Berechnung der Verteilung der MIA-Werte nach Stadium
<u>Tabelle 16</u>	Cut-off-Berechnung der Vergleichsgruppe
<u>Tabelle 17</u>	Erklärung von Sensitivität und Spezifität
<u>Tabelle 18</u>	MIA maximal gruppiert nach Stadium, Cut-off und Rezidiv
<u>Tabelle 19</u>	Berechnung von Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Patientengruppen
<u>Tabelle 20</u>	Berechnung MIA versus LDH
<u>Tabelle 21</u>	Berechnung von LDH und MIA in Zusammenhang mit einem Rezidiv im Stadium III
<u>Tabelle 22</u>	10-Jahres-Überlebens-Rate (männlich)
<u>Tabelle 23</u>	10-Jahres-Überlebens-Rate (weiblich)
<u>Tabelle 24</u>	Gesamtüberleben in Prozent nach Jahren

11 Literatur

- ¹ Sterry W, Paus R. Checkliste Dermatologie, Venerologie, Allergologie, Phlebologie, Andrologie. 4. aktualisierte Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 2000:451-462.
- ² Krebs in Deutschland 2003 – 2004: Malignes Melanom der Haut. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008.
- ³ Maligne Melanome, Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumorzentrum München, 5. überarbeitete Auflage, 2000.
- ⁴ Böcker W, Denk H, Heitz PU. Pathologie. Urban und Schwarzenberg Verlag, 1997.
- ⁵ Jung EG. Dermatologie. 4. überarbeitete und erweiterte Auflage, Hippokrates Verlag Stuttgart, 1998.
- ⁶ Clark WH Jr, From L, Bernardino EA, et al. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 29:705-727, 1969.
- ⁷ Garbe C, Hauschild A, Volkenandt M, et al. Leitlinie des Malignen Melanoms. Vers.15. 2005.
- ⁸ Rigeway CA, Hieken TJ, Ronan SG, et al. Acral lentiginous melanoma. *Arch Surg* 130:88-92, 1995.
- ⁹ Braun-Falco O, Stolz W, Bilek P, et al. Das Dermatoskop. Eine Vereinfachung der Auflichtmikroskopie von pigmentierten Hautveränderungen. *Hautarzt* 41:131-136, 1990.
- ¹⁰ Stolz W, Braun-Falco O, Bilek P. Farbatlas der Dermatoskopie. Blackwell Berlin, 1993.
- ¹¹ Ackermann AB, Cerroni L, Kerl H. Pitfalls in histopathologic diagnosis of malignant melanoma. Lea and Febiger Philadelphia, 1994.

¹² Tronnier M, Garbe C, Bröcker EB, et al. Standards der histopathologischen Diagnose maligner Melanome. *Hautarzt* 48:720-729, 1997.

¹³ Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 172:902-908, 1970.

¹⁴ Wittekind C, Wagner G (Hrsg.) TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 5. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1997.

¹⁵ Bogdahn U, Apfel R, Hahn M, et al. Autocrine tumor cell growth inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res* 49:5358-5363, 1989.

¹⁶ Blesch A, Bosserhoff AK, Apfel R, et al. Cloning of a novel malignant melanoma-derived growth regulatory protein, MIA. *Cancer Res* 54:5695-5701, 1994.

¹⁷ Hein, R, Bosserhoff A, et al. Tumormarker beim malignen Melanom. *Dtsch Arztebl*: 103(14): A-943 / B-798 / C-771, 2006.

¹⁸ Stoll R, Renner C, Zweckstetter M, et al. The extracellular human melanoma inhibitory activity (MIA) protein adopts an SH3 domain-like fold. *EMBO J* 20:340-349, 2001.

¹⁹ Dietz U, Sandell LJ. Cloning of a retinoic acid-sensitive mRNA expressed in cartilage and during chondrogenesis. *J Biol Chem* 271:3311-3316, 1996.

²⁰ Bauer R, Humphries M, Fässler R, et al. Regulation of integrin activity by MIA. *J Biol Chem*. 281(17):11669-77. Apr. 2006.

²¹ Bosserhoff AK, Echtenacher B, Hein R, et al. Functional role of melanoma inhibitory activity in regulating invasion and metastasis of malignant melanoma cells in vivo. *Melanoma Res* 11:417-421, 2001.

²² Guba M, Bosserhoff AK, Steinbauer M, et al. Overexpression of Melanoma Inhibitory Activity (MIA) enhances extravasation and metastasis of a-mel 3 melanoma cells in vivo. *Br J Cancer* 83:1216-1222, 2000.

-
- ²³ Berg LC, Mata X, Thomsen PD, et al. Molecular characterization and chromosomal assignment of equine cartilage derived retinoic acid sensitive protein (CD-RAP) / melanoma inhibitory activity (MIA). PubMed 407(1-2):98-104. Epub Oct, 2007.
- ²⁴ Bosserhoff AK, Kondo S, Moser M, et al. The mouse MIA/CD-RAP gene: Structure chromosomal localization and expression in cartilage and chondrosarcoma. Dev Dyn 208:516-525, 1997.
- ²⁵ Bosserhoff AK, Kaufmann M, Kaluza B, et al. MIA, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. Cancer Res 57:3149-3153, 1997.
- ²⁶ Bosserhoff AK, Golob M, Buettner R, et al. MIA (melanoma inhibitory activity) – Biologische Funktion und klinische Relevanz beim malignen Melanom. Hautarzt 49:924-928, 1998.
- ²⁷ Aung PP, Oue N, et al. Systematic search for gastric cancer-specific genes based on SAGE data: melanoma inhibitory activity and matrix metalloproteinase-10 are novel prognostic factors in patients with gastric cancer. Oncogene: 25(17):2546-57, Apr. 2006.
- ²⁸ El Fitori J, Kleeff J, et al. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) increases the invasiveness of pancreatic cancer cells. Cancer Cell Int. 14;5(1):3, Feb. 2005.
- ²⁹ Bosserhoff AK, Moser M, Hein R, et al. In situ expression patterns of melanoma-inhibiting-activity (MIA) in malignant melanomas and breast cancers. J Pathol 187:446-454, 1999.
- ³⁰ Hau P, Ruemmele P, Kunz-Schughart LA, et al. Expression levels of melanoma inhibitory activity correlate with time to progression in patients with high-grade glioma. Oncol Rep.;12(6):1355-64, Dec. 2004.
- ³¹ Schäfer BW, Heizmann CW. The S-100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. Trends Biochem Sci 21:134-140, 1996.
- ³² Jäckel A, Deichmann M, Waldmann V, et al. S-100b protein in serum, a tumor marker in malignant melanoma. Hautarzt 50:250-256, 1999

-
- ³³ Hauschild A, Michaelsen J, Brenner W, et al. Prognostic significance of Serum S-100B detection compared with routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients. *Melanoma Res* 9:155-161, 1999.
- ³⁴ Mohamed MQ, Abraha H, Sherwood RA, et al. Serum S-100 protein as a marker of disease activity in malignant melanoma. In: *Third International Conference on the adjuvant Therapy of Malignant Melanoma*. London, Royal College of Physicians, UK, 1999.
- ³⁵ Acland K, Evans AV, Abraha H, et al. Serum S100 concentrations are not useful in predicting micrometastatic disease in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 146:832-835, 2002.
- ³⁶ Kaskel P, Berking C, Sander S, et al. S-100 protein in peripheral blood: a marker for melanoma metastases. *J Am Acad Dermatol* 41:962-969, 1999.
- ³⁷ Kraehn G, Kastel P, Nolte A, et al. S-100 protein in peripheral blood: a tumor marker for malignant melanoma. *Melanoma Res* 7 (Suppl. 1):94, 1997.
- ³⁸ Schultz ES, Diepgen TL, von der Driesch P. Clinical and prognostic relevance of serum S-100 β protein in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 138:426-430, 1998.
- ³⁹ Deichmann M, Brenner A, Bock M, et al. S-100-beta, melanoma inhibiting activity, and lactat dehydrogenase discriminate progressive from nonprogressive American Joint Committee on Cancer stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 50:250-256, 1999.
- ⁴⁰ Hauschild A, Engel G, Brenner W, et al. S-100 β protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma. *Oncology* 56:338-344, 1999.
- ⁴¹ Buer J, Probst M, Franzke A, et al. Elevated serum levels of S-100 and survival in metastatic malignant melanoma. *Br J Cancer* 75:1373-1376, 1997.
- ⁴² Smith B, Selby P, Southgate J, et al. Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Lancet* 338:1227-1229, 1991.
- ⁴³ Kwon BS, Haq AK, Pomerantz SH, et al. Isolation and sequence of a cDNA clone for human tyrosinase that maps at the mouse c-albino locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:7473-7477, 1987.

-
- ⁴⁴ Ponnazhagan S, Hou L, Kwon BS. Structural organization of the human tyrosinase gene and sequence analysis and characterization of its promoter region. *J Invest Dermatol* 102:744-748, 1994.
- ⁴⁵ Muller G, Ruppert S, Schmidt E, Schultz G. Functional analysis of alternatively spliced tyrosinase gene transcripts. *EMBO J* 7:2723-2730, 1988.
- ⁴⁶ Foss AJ, Guille MJ, Occleston NL, et al. The detection of melanoma cells in peripheral blood by reverse transcription-polymerase-chain-reaction. *Br J Cancer* 72:155-159, 1995.
- ⁴⁷ Brossart P, Keilholz U, Willhauck M, et al. Hematogenous spread of malignant melanoma cells in different stages of disease. *J Invest Dermatol* 101:887-889, 1993.
- ⁴⁸ Glaser R, Rass K, Seiter S, et al. Detection of circulating melanoma cells by specific amplification of tyrosinase complementary DNA is not a reliable tumor marker in malignant melanoma patients. A clinical two-center study. *J Onco.* 15:2818-2825, 1997.
- ⁴⁹ Neumeister B, Besenthal U, Liebrich H. *Klinikleitfaden Labordiagnostik, München/Jena, Urban&Fischer, 2003.*
- ⁵⁰ Deichmann M, Benner A, Bock M, et al. S100-beta, MIA and LDH discriminate progressive from non progressive Melanoma. *Clinical Oncology* June,17, 1999.
- ⁵¹ Hirai S, Kageshita T, Kimura T, et al. Serum levels of sICAM-1 and 5-S-cysteinyldopa as markers of melanoma progression. *Melanoma Res* 7:58-62, 1997.
- ⁵² Hauschild A, Gläser R, Christophers E. Quantification of melanoma-associated molecules in plasma/serum of melanoma patients. *Recent Results in Cancer Research, Vol. 158, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2001.*
- ⁵³ Hornef S, Kux J, Rassner G. Neuronen-spezifische Enolase (NSE) ein geeigneter Tumormarker des malignen Melanoms? *Hautarzt* 43:77-80, 1992.
- ⁵⁴ Wibe E, Hannisdal E, Paus E, et al. Non-specific enolase as a prognostic factor in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 28:1692-1695, 1992.

-
- ⁵⁵ Tofani A, Cioffi RP, Scuito R, et al. S-100 and NSE as serum markers in melanoma. *Acta Oncologica* 36:761-764, 1997.
- ⁵⁶ Reintgen DS, Cruse CW, Wells, KE, et al. The evaluation of putative tumor markers for malignant melanoma. *Ann Plast Surg* 28:55-59, 1992.
- ⁵⁷ Miliotes G, Lyman GH, Cruse CW, et al. Evaluation of new putative tumor markers for melanoma. *Am Surg Oncol* 3:558-563, 1996.
- ⁵⁸ Balch CM, Urist MM, Karakousis CP, et al. Efficacy of 2 cm surgical margins for intermediate-thickness melanomas (1-4 mm). Results of a multi-institutional randomized surgical trial. *Ann Surg* 218:262-269, 1993.
- ⁵⁹ Empfehlungen der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge des malignen Melanoms. 1994 veröffentlicht, aktualisiert 2003.
- ⁶⁰ Kaufmann R, Proebstle T, Sterry W. Malignes Melanom. In: Zeller WJ, zur Hausen H (Hrsg). *Onkologie*. Ecomed, Erlangen, 1995.
- ⁶¹ Johnson TM, Smith JW, Nelson BR, et al. Current therapy for cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 32:689-707, 1995.
- ⁶² Evans RA. Elective lymph node dissection for malignant melanoma: the tumor burden of nodal disease. *Anticancer Res* 15:575-579, 1995.
- ⁶³ Harris MN, Shapiro RL, Roses DF. Malignant melanoma. Primary surgical management (excision and node dissection) based on pathology and staging. *Cancer* 75 (2 Suppl):715-725, 1995.
- ⁶⁴ Stone CA, Goodacre TE. Surgical management of regional lymph nodes in primary cutaneous malignant melanoma. *Br J Surg* 82:1015-1022, 1995.
- ⁶⁵ Houghton AN, Balch CM. Treatment for advanced melanoma. In: Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober AJ, Soong S-J (eds.). *Cutaneous melanoma*. 2nd ed. Philadelphia, London, New York, Hagerstown: Lippincott, 1992:468-497.

-
- ⁶⁶ Göhl J, Meyer T, Haas C, et al. Ist die chirurgische Therapie von Fernmetastasen maligner Melanome sinnvoll? *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 113:122-126, 1996.
- ⁶⁷ Sack H. Strahlentherapie des malignen Melanoms. *Der Onkologe* 2:473-475, 1996.
- ⁶⁸ Burmeister BH, Smithers BM, Poulsen M, et al. Radiation therapy for nodal disease in malignant melanoma. *World J Surg* 19:369-371, 1995.
- ⁶⁹ Coffey RJ, Flickinger JC, Bissonette DJ, et al. Radiosurgery for solitary brain metastases using the cobalt-60 gamma units: Methods and results in 24 patients. *Int J Radiat Oncol* 20:1287-1295, 1996.
- ⁷⁰ Stevens G, Firth I, Coates A. Cerebral metastases from malignant melanoma. *Radiother Oncol* 23:185-191, 1992.
- ⁷¹ Cocconi G, Bella M, Calabresi F, et al. Treatment of metastatic malignant melanoma with dacarbazine plus tamoxifen. *N Engl J Med* 327:516-523, 1992.
- ⁷² Garbe C. Chemotherapy and chemoimmunotherapy in disseminated malignant melanoma. *Melanoma Res* 3:291-299, 1993.
- ⁷³ Johnson TM, Smith JW, Nelson BR, et al. Current therapy for cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 32:689-707, 1995.
- ⁷⁴ Tilgen W, Kaufmann R. Kutane Melanome. *Forum* 10:310-323, 1995.
- ⁷⁵ Falkson CI, Falkson G, Falkson HC. Improved results with the addition of recombinant interferon alpha 2b to dacarbazine in the treatment of patients with metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 9:1403-1408, 1991.
- ⁷⁶ Legha SS, Buzaid AC, Ring S, et al. Improved results of treatment of metastatic melanoma with combined uses of biotherapy and chemotherapy (Biochemo). *Proc Am Soc Clin Oncol* 13:394,1343, 1994.
- ⁷⁷ Richards JM, Mehta N, Ramming K, et al. Sequential chemoimmunotherapy in the treatment of metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 10:1338-1343, 1993.

⁷⁸ Thomson DB, Adena M, McLeod C, et al. Interferon a2a does not improve response or survival when combined with dacarbazine in metastatic malignant melanoma: results of a multi-institutional Australian randomized trial. *Melanoma Res* 3:133-139, 1993.

⁷⁹ Kleeberg UR, Engel E, Israels P, et al. Palliative therapy of melanoma patients with fotemustine. Inverse relationship between tumor load and treatment effectiveness. A multicenter phase II trial of the EORTC-Melanoma Cooperative Group (MCG) *Melanoma Res* 5:195-200, 1995.

⁸⁰ Meyskens FL Jr, Kopecky K, Samson M, et al. Recombinant human interferon gamma: Adverse effects in high-risk stage I and II cutaneous malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 82:1071, 1990.

⁸¹ Dummer R, Hauschild A, Henseler T, et al. Combined interferon-alpha and interleukin-2 adjuvant treatment for melanoma. *Lancet* 352:908-909, 1998.

⁸² Grob JJ, Dreno B, de la Salmoniere P, et al. Randomised trial of interferon alpha-2b as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically detectable node metastases. *Lancet* 351:1905-1910, 1998.

⁸³ Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, et al. Adjuvant interferon-alpha2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group. *J Clin Oncol* 16:1425-1429, 1998.

⁸⁴ Cameron DA, Cornbleet MC, MacKie RM, et al. Adjuvant interferon alpha 2b in high risk melanoma – the Scottish study. *Br J Cancer* 84:1146-1149, 2001.

⁸⁵ Levy E, Silverman MK, Vossaert KA, et al. Late recurrences of malignant melanoma: a report of five cases, a review of the literature and a study of associated factors. *Melanoma Res* 1:63-67, 1991.

⁸⁶ Eggermont AM. Surveillance des malades atteints de melanome de stade I apres exeresse de la tumeur primitive. *Ann Dermatol Venereol* 122:292-297, 1995.

⁸⁷ Kleeberg UR. Wishful thinking, unicentric empiricism and the everyday world of the medical melanomologist. *Melanoma Res* 7 (Suppl 2):143-149, 1997.

⁸⁸ Huang CL, Provost N, Marghoob AA, et al. Laboratory tests and imaging studies in patients with cutaneous malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 39:451-463, 1998.

⁸⁹ Terhune MH, Swanson N, Johnson TM. Use of chest radiography in the initial evaluation of patients with localized melanoma. *Arch Dermatol* 134:569-572, 1998.

⁹⁰ Weiss M, Loprinzi CL, Creagan ET, et al. Utility of follow-up tests for detecting recurrent disease in patients with malignant melanomas. *JAMA* 274:1703-1705, 1995.

⁹¹ Basseres N, Grob JJ, Richard MA, et al. Cost-effectiveness of surveillance of stage I melanoma. A retrospective appraisal based on a 10-year experience in a dermatology department in France. *Dermatology* 191:199-20, 1995.

⁹² Sachs L. *Angewandte Statistik*. 11. Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 2004.

⁹³ Garbe C, Blum A. Epidemiology of cutaneous melanoma in Germany and worldwide. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:280-90, 2001.

⁹⁴ Hall HI, Miller DR, Rogers JD, et al. Update on the incidence and mortality from melanoma in the United States. *J Am Acad Dermatol* 40:35-42, 1999.

⁹⁵ Bosserhoff AK, Kaufmann M, Kaluza B, et al. Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res* 57:3149-3153, 1997.

⁹⁶ Vucetic B; Rogan SA; Hrabac P, et al. Biological value of melanoma inhibitory activity serum concentration in patients with primary skin melanoma. *Melanoma Res* 18(3): 201-7, Jun. 2008.

⁹⁷ Korting HC, Sterry W (Hrsg.). *Diagnostische Verfahren in der Dermatologie*. Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, 1997.

⁹⁸ Voit C, Mayer T, Proebstle TM, et al. Stellenwert von Ultraschallnachsorge mit ultraschallgesteuerter Feinnadelaspirationszytologie (FNAC) bei Patienten mit malignem Melanom. *Ultraschall in Med* 21:218-222, 2000.

⁹⁹ Deichmann M, Benner A, Kuner N, et al. Are responses to therapy of metastasized malignant melanoma reflected by decreasing serum values of S100beta or melanoma inhibitory activity (MIA)? *Melanoma Res* 11(3):291-6, Jun. 2001

¹⁰⁰ Garbe C, Leiter U, Ellwanger U, et al. Diagnostic value and prognostic significance of protein S100 β , Melanoma-Inhibitory-Activity and Tyrosinase/MART-1 reverse Transcription-polymerase chain reaction in the follow-up of highrisk melanoma patients. *Cancer* 97:1737-1745, 2003.

¹⁰¹ Ugurel S. Serummarker des malignen Melanoms. *Der Hautarzt* 56(2):173-84; 185-6, Feb. 2005.

¹⁰² Tas F, Yasasever V, Duranyildiz D, et al. Clinical value of protein S100 and melanoma-inhibitory activity (MIA) in malignant melanoma. *J Am clin oncol* 27(3):225-8, Jun. 2004.

12 Tabellarischer Lebenslauf

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

13 Erklärung

„Ich, Andreas W. Fritsch, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:
„Die Aussagekraft des Tumormarkers MIA beim malignen Melanom im Stadium III“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

14 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Wolfram Sterry danke ich für die Möglichkeit, meine Dissertation in der von ihm geleiteten Klinik durchzuführen.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Uwe Trefzer, für die Überlassung des Themas sowie die fachliche Betreuung und Hilfestellung der letzten Jahre.

Außerdem möchte ich Frau PD Dr. med. Christiane Voit für die Betreuung und Begleitung in den ersten Jahren dieser Arbeit danken.

Zu danken habe ich ferner Herrn Bernd Schicke und Frau Dr. med. Maja Hofmann für die freundliche Unterstützung bei den statistischen Berechnungen.