

Retrospektive Untersuchung zur Abhängigkeit des  
Metastasierungszeitpunktes vom BRAF-Mutationsstatus bei  
Patienten mit malignem Melanom im Stadium III und IV am  
Hauttumorzentrum Jena

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Malte Schiffer

geboren am 21.07.1991 in Duisburg

Gutachter:

1. Prof. Dr. Wolfgang Pfister, Sophien und Hufeland Klinikum Weimar
2. Prof. Dr. Uwe Wollina, Städtisches Klinikum Dresden
3. PD Dr. Uta-Christina Hipler, Universitätsklinikum Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 28.09.2020

# INHALTSVERZEICHNIS

---

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Zusammenfassung	7
2. Einleitung	9
2.1. Definition des malignen Melanoms	9
2.2. Epidemiologie und Ätiopathogenese	13
2.3. Klassifikation	15
2.4. Diagnostik	20
2.5. Therapie	25
2.5.1. Operative Therapie	25
2.5.2. Adjuvante Therapie	26
2.5.3. Therapie im fortgeschrittenen Stadium III und IV	27
2.5.4. Systemische Therapie des metastasierten malignen Melanoms	28
2.6. MAP-Kinase-Weg und BRAF-Mutation	30
3. Ziele der Arbeit	34
4. Methodik	35
4.1. Studiendesign	35
4.2. Patientenkollektiv	35
4.3. Datenerhebung	36
4.4. Zielparameter	37
4.5. Statistische Auswertung	39
5. Ergebnisse	43
5.1. Deskriptive Darstellung des gesamten Patientenkollektivs	43
5.2. Ergebnisse der BRAF-Mutationsanalyse	45
5.3. Deskriptive Darstellung nach BRAF-Mutationsstatus	46
5.4. Untersuchung der Metastasierungszeitpunkte in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	49
5.4.1. Analyse des Alters bei Erstmetastasierung (Stadium III und IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	49

5.4.2. Untersuchung des Alters bei Fernmetastasierung (Stadium IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	50
5.5. Analyse verschiedener Metastasierungszeiträume in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	52
5.5.1. Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis Erstmetastasierung	52
5.5.2. Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose	53
5.5.3. Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose	54
5.5.4. Untersuchung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose und Fernmetastasierung (Stadium IV)	55
5.5.5. Untersuchung des Zeitintervalls zwischen lokoregionärer Erstmetastasierung (Stadium III) und Fernmetastasierung (Stadium IV)	56
5.6. Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	57
5.7. Analyse aufgetretener Fernmetastasen (Stadium IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	59
5.7.1. Lungenmetastasen	62
5.7.2. Gehirnmetastasen	62
5.7.3. Knochenmetastasen	64
5.7.4. Lebermetastasen	65
5.8. Analyse der Laborparameter S100 und LDH in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	66
5.8.1. Analyse der Laborparameter S100 und LDH zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	66
5.8.2. Analyse der Laborparameter S100 und LDH zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	69

5.8.3. Einfluss von S100 und LDH zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung auf das Gesamtüberleben unabhängig vom BRAF-Mutationsstatus	72
5.9. Vergleich der Lokalisation kutaner Melanome in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	74
5.10. Vergleich der Dicke und der Invasionstiefe kutaner Melanome in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	75
6. Diskussion	77
6.1. Ergebnisse der BRAF-Mutationsanalyse	77
6.2. Deskriptive Darstellung in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	78
6.3. Untersuchung der Metastasierungszeitpunkte in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	79
6.4. Untersuchung der Metastasierungszeiträume in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	80
6.4.1. Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV)	81
6.4.2. Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose	81
6.4.3. Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose	82
6.4.4. Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Fernmetastasierung (Stadium IV)	82
6.4.5. Metastasierungszeitraum: lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bis Fernmetastasierung (Stadium IV)	83
6.5. Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	83
6.6. Analyse aufgetretener Fernmetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	85
6.6.1. Lungenmetastasen	85
6.6.2. Gehirnmetastasen	86
6.6.3. Knochenmetastasen	87
6.6.4. Lebermetastasen	87

6.7. Analyse der Laborparameter S100 und LDH in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	88
6.8. Vergleich der Lokalisation kutaner Melanome in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	90
6.9. Vergleich der Dicke und der Invasionstiefe kutaner Melanome in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus	91
7. Schlussfolgerungen	92
8. Literatur- und Quellenverzeichnis	94
9. Anhang	99
9.2. Ehrenwörtliche Erklärung	99
9.3. Danksagung	100

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>ALM</b>	akrolentiginöses malignes Melanom
<b>BRAF</b>	B-Rapidly-Accelerated-Fibrosarcoma
<b>ICD-10</b>	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (10. Version)
<b>LDH</b>	Laktatdehydrogenase
<b>LM</b>	Lentigo-maligna
<b>LMM</b>	Lentigo-maligna Melanom
<b>NMM</b>	nodulärmalignes Melanom
<b>MAPK</b>	Mitogen-activated-proteine-Kinase
<b>MEK</b>	Mitogen-activated-protein-Kinase-Kinase
<b>MM</b>	Malignes Melanom/ maligne Melanome
<b>NRAS</b>	N-Rat-sarcoma
<b>PD1</b>	Programmed-Death-Rezeptor 1
<b>PD-L1</b>	Programmed-Death-Ligand 1
<b>PD-L2</b>	Programmed-Death-Ligand 2
<b>SSM</b>	superfiziell spreitendes malignes Melanom

# 1 ZUSAMMENFASSUNG

---

Das maligne Melanom ist eine bösartige Tumorentität, die von den Melanozyten ausgeht. Am häufigsten betroffen ist die Haut. Das maligne Melanom tritt aber auch an den Schleimhäuten, den Augen oder den Meningen auf. Die Inzidenz des malignen Melanoms in Deutschland stieg über die letzten Jahrzehnte deutlich an, während die Mortalität in den letzten Jahren nur wenig variierte. Durch die Entdeckung von Mutationen in den Genen des MAPK-Signalwegs, allen voran des BRAF-Gens, konnte in der Vergangenheit eine zielgerichtete Therapie des malignen Melanoms entwickelt werden.

Die vorliegende Arbeit hat es sich zur Aufgabe gemacht klinisch -pathologische Eigenschaften der Patienten des Hauttumorzentrum Jena herauszuarbeiten und sie hinsichtlich des BRAF-Mutationsstatus auf Unterschiede zu untersuchen. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf der Betrachtung der Metastasierungszeitpunkte und den daraus berechneten Metastasierungszeiträumen, da sich aus der klinischen Praxis am Hauttumorzentrum Jena der Verdacht längerer Metastasierungszeiträume für BRAF-mutierte Patienten ergab.

Die Patientendaten wurden retrospektiv den elektronischen Patientenakten der Klinik für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena entnommen. Einschlusskriterien waren ein malignes Melanom im Stadium III oder IV und eine durchgeführte BRAF-Mutationsanalyse. Es ergab sich ein Patientenkollektiv von 165 Patienten, die über den Zeitraum von Oktober 2010 bis Januar 2019 beobachtet wurden.

Für das von uns untersuchte Patientenkollektiv am Hauttumorzentrum Jena ergab sich ein deutlich jüngeres Alter bei Erstdiagnose für BRAF-mutierte Patienten gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten. Zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung und der Fernmetastasierung waren BRAF-mutierte Patienten signifikant jünger als BRAF-Wildtyp Patienten. Alle untersuchten Metastasierungszeiträume wiesen keine wesentlichen Unterschiede zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten auf. Auch das Gesamtüberleben zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Diese Ergebnisse für die Patienten am Hauttumorzentrum Jena korrelieren mit den Ergebnissen anderer Studien, die sich in der Literatur fanden.

Im fernmetastasierten Stadium traten in der Gruppe der BRAF-mutierten Patienten signifikant mehr Gehirnetastasen auf. Ein Zusammenhang zwischen anderen von Fernmetastasen betroffenen Organen und BRAF-mutierten malignen Melanomen ließ sich in unserer untersuchten Patientenkohorte nicht nachweisen.

Anders als in vielen veröffentlichten Studien beschrieben, wiesen BRAF-mutierte kutane Melanome in dem von uns untersuchten Patientenkollektiv keine dünneren Primärtumore auf. Wir konnten zeigen, dass BRAF-mutierte kutane Melanome häufiger am Rumpf auftraten, allerdings ohne ein statistisch signifikantes Level zu erreichen.

Abschließend kann gesagt werden, dass die untersuchte Patientenkohorte am Hauttumorzentrum Jena viele klinisch-pathologische Eigenschaften aufweist, die in der Literatur für BRAF-mutierte Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten beschrieben sind. Durch die detaillierte Darstellung und Auswertung der Metastasierungszeiträume, konnte der aus der klinischen Praxis aufgestellte Verdacht der längeren Metastasierungszeiträume für BRAF-mutierte Melanome widerlegt werden.

Es sollte beachtet werden, dass in dieser Arbeit sowohl kutane Melanome, als auch mukosale-, okkulte- und Augenmelanome betrachtet wurden. Viele vergleichbare Studien in der Literatur beschränken sich auf kutane maligne Melanome. Außerdem wurden mögliche NRAS-Mutationen in unserer Studie nicht beachtet und in die Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten eingeteilt. Des Weiteren ist anzumerken, dass durch die retrospektive Datenerfassung einige Untersuchungsparameter von Patienten nicht erfasst werden konnten.

Zukünftige Studien sollten sich weiter mit dem Metastasierungsverhalten im Stadium IV BRAF-mutierter Melanome beschäftigen. Der von uns berichtete Zusammenhang zwischen BRAF-mutierten Melanomen und dem Auftreten von Gehirnetastasen, wurde zwar auch schon in Studien beschrieben, erfordert aber noch mehr klinische Untersuchungen, besonders im Hinblick auf die Therapie der Gehirnetastasen.

## 2 EINLEITUNG

---

### 2.1 DEFINITION DES MALIGNEN MELANOMS

Das maligne Melanom (MM) ist ein bösartiger Tumor melanozytären Ursprungs. Der häufigste Manifestationsort des MM ist die Haut. Deutlich seltener treten MM an Augen, Meningen oder Schleimhäuten auf. Das kutane MM wird histopathologisch in verschiedene Subtypen eingeteilt. Zu diesen Subtypen zählen das noduläre maligne Melanom (NMM), das Lentigo-maligna Melanom (LMM), das akral-lentiginöse Melanom (ALM) und das superfiziell-spreitende Melanom (SSM). Mit einer Häufigkeit von ca. 60-70 % ist das SSM der häufigste vorkommende Subtyp des kutanen Melanoms. Das NMM tritt mit einer Häufigkeit von 15-30 % auf. Das LMM macht 5-15 % der Fälle aus und das ALM ca. 5-10 % (Roesch und Berking 2018).

Typisch für das SSM ist eine unregelmäßig begrenzte und pigmentierte Macula. Es wächst primär horizontal und zeichnet sich histopathologisch durch große, rundliche, atypische Melanozyten aus, die den Zellen des Morbus Paget ähneln. Klinisch präsentiert es sich vor allem durch seine Asymmetrie und die unregelmäßige Farbverteilung (Abbildung 1) (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 1:** Superfiziell spreitendes Melanom (sekundär nodulär) Schläfe links mit einer Tumordicke nach Breslow von 5,2 mm und Clark-Level V

Das NMM hat eine kurze horizontale Wachstumsphase und geht schnell in ein aggressives vertikales Wachstum über. Darüber hinaus bildet es häufig knotige Anteile aus und ist relativ homogen bräunlich-schwarz pigmentiert. Das NMM kann auf pigmentierten Nävuszellnävi entstehen. Häufiger entsteht es auf unauffälliger Haut und zeichnet sich durch ein rasches Wachstum aus. Oft sind zusätzlich Ulzerationen zu beobachten und histopathologisch zeigt sich eine Infiltration der Epidermis, Dermis und gelegentlich der Subcutis mit pleomorphen Melanomzellen (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 2 und 3:** Ulzeriertes noduläres malignes Melanom, Wade rechts, Clark-Level V, max. Tumordicke nach Breslow 11,2 mm

Das Lentigo-maligna Melanom (LMM) entsteht auf dem Boden einer Lentigo maligna (LM), die sich meist auf sonnenexponierten Hautarealen älterer Menschen bildet. Die Begrenzung der LM ist unscharf und unregelmäßig. Der Übergang der LM in ein LMM erfolgt meist langsam und zeichnet sich durch eine Änderung der Wachstumsrichtung

von horizontal nach vertikal aus. Das LMM ist wie die LM unscharf und unregelmäßig begrenzt und weist braune und schwarze Anteile auf (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 4:** *Malignes Melanom auf Lichthaut i.S. Lentigo maligna Melanom an der linken Wange, Clark-Level IV, max. Tumordicke nach Breslow 8,8 mm*

Das Aussehen des akral-lentiginösen Melanoms (ALM) ähnelt dem des LMM. Es entsteht an den Handinnenflächen, den Fußsohlen und an den Phalangen. An Zehen und Fingern entwickelt es sich häufig im peri- und subungualen Bereich. Häufig bestehen über längere Zeit unregelmäßig begrenzte braun-schwarze Hautveränderungen, die in ein invasives Wachstum übergehen. Histopathologisch zeigen sich dendritisch oder spindelförmige atypische Melanozyten, die durch das vertikale Wachstum in die Epidermis vordringen (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 5:** Akrolentiginöses Melanom Fußsohle rechts, Clark-Level IV, Breslow 2,2 mm

Neben den beschriebenen Formen wurden weitere seltenere Varianten des MM beschrieben, wie z.B. das amelanotische Melanom, das desmoplastische Melanom oder das verruköse Melanom (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 6:** Ulzeriertes amelanotisches malignes Melanom, rechte Schulter, Clark -Level V, max. Tumordicke nach Breslow 11,5 mm

Schleimhautmelanome und okuläre Melanome treten deutlich seltener als kutane Melanome auf. Prognostisch gesehen sind Schleimhautmelanome meist schlechter, da sie häufig erst in späteren Tumorstadien diagnostiziert werden. Okuläre Melanome werden nach ihrem Ursprungsgewebe und ihrer Molekularpathologie in uveale und konjunktivale Melanome unterteilt (Roesch und Berking 2018).



**Abb. 7:** Schleimhautmelanom Gingiva/Vestibulum oris links, Regio 23

## 2.2 EPIDEMIOLOGIE UND ÄTIOPATHOGENESE

Während das MM weniger als 5 % aller Hautkrebsfälle darstellt, ist es dennoch für die Mehrheit der durch Hautkrebs verursachten Todesfälle verantwortlich (Matthews et al. 2017).

Weltweit variiert die Inzidenz des kutanen MM sehr stark. Im Jahr 2012 lag die Inzidenz in Südostasien bei 0,2 pro 100.000 Einwohner pro Jahr, in Neuseeland bei 35,8 pro 100.000 Einwohner pro Jahr, in Australien bei 34,9 pro 100.000 Einwohner pro Jahr, in der EU bei 10,2 pro 100.000 Einwohner pro Jahr und in Nordamerika bei 13,8 pro 100.000 Einwohner pro Jahr (Schadendorf et al. 2018). Während das Lebenszeitrisiko an einem MM zu erkranken 1960 bei ca. 1:600 lag, liegt es heute bei 1:53 (2 %). Damit ist das MM der Tumor mit der am schnellsten ansteigenden Inzidenz (Roesch und Berking 2018).

Im Jahr 2014 erkrankten in Deutschland ca. 21.200 Menschen an einem MM der Haut, wobei Frauen und Männer etwa zu gleichen Teilen betroffen waren. Seit 2008 ist die Inzidenzrate deutlich angestiegen, was wahrscheinlich auf das 2008 eingeführte Hautkrebsscreening-Programm zurückzuführen ist, wodurch mehr Melanome erfasst wurden. Das mittlere Erkrankungsalter lag im Jahr 2014 für Frauen bei 60 Jahren und

für Männer bei 67 Jahren. Aktuell liegen die 5-Jahres-Überlebensraten in Deutschland für Frauen bei 94 % und für Männer bei 91 %. Der prozentuale Anteil des kutanen MM an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland im Jahr 2014 lag für Männer bei 4,4 % und für Frauen bei 4,5 % (Kaatsch und al. 2017).

Seit 2008 gibt es in Deutschland ein gesetzliches Früherkennungsprogramm. Dadurch haben Frauen und Männer ab 35 Jahren alle 2 Jahre Anspruch auf eine Hautuntersuchung durch einen entsprechend fortgebildeten Arzt (Kaatsch und al. 2017).

Eine von Jiang et al. im Jahr 2015 veröffentlichte Metaanalyse zeigt, dass auch der sozioökonomische Status einen Einfluss auf die Inzidenz des MM hat. In Gruppen mit hohem sozioökonomischem Status zeigte sich eine signifikant höhere Inzidenz als in Gruppen mit niedrigem sozioökonomischem Status. Während die Patienten mit hohem sozioökonomischen Status meist niedrige Tumorstadien bei Erstdiagnose aufwiesen, zeigten die Patienten mit niedrigem sozioökonomischen Status höhere Tumorstadien bei Erstdiagnose und eine höhere Mortalität (Jiang et al. 2015).

Das Risiko an einem MM der Haut zu erkranken, kann durch exogene und endogene Risikofaktoren erhöht sein. Zu den exogenen Risikofaktoren zählt in allererster Linie die ultraviolette (UV-)Strahlung. Als Risikofaktor gilt sowohl die natürliche Strahlung durch die Sonne, als auch die künstliche Strahlung beispielsweise in Solarien. Häufige Sonnenexposition im Kinder- und Jugendalter erhöht das Risiko zusätzlich. Es zeigte sich, dass vor allem intermittierend hohe UV-Dosen mit daraus resultierenden Sonnenbränden auf ungebräunter Haut im Kindesalter das Risiko für die Entstehung eines MM erhöhen, während die kumulative UV-Dosis meist nicht entscheidend zur Melanomentstehung beiträgt (Gandini et al. 2005).

Zu den wichtigsten endogenen Risikofaktoren zählen eine hohe Anzahl an Pigmentmalen und dysplastischer Nävi. Helle Haare, helle Augenfarbe, helle Haut und die Ausbildung von Sommersprossen erhöhen das Risiko an einem MM zu erkranken (Berwick et al. 2009). Außerdem erhöht sich das Risiko bei Verwandten ersten Grades mit MM. Auch eine vorangegangene Melanomerkrankung erhöht das Risiko für ein erneutes Auftreten (Kaatsch und al. 2017).

Exogene und endogene Faktoren führen zu einer Entartung der Zellen im melanozytären System. Welche Zelle dabei als Ursprungszelle gilt, ist noch nicht

endgültig geklärt. Sowohl reife Melanozyten, als auch deren Vorstufen wie z.B. Melanoblasten oder melanozytäre Stammzellen kommen dafür infrage. Durch den Übergang der Zellen in maligne Melanomzellen kommt es zu verschiedenen Störungen in den Signaltransduktionswegen der Zellen. Die Folge ist ein invasives Wachstum, eine autonome Zellproliferation und ein verbessertes Zellüberleben der Tumorzellen. Ein häufig betroffener Signaltransduktionsweg ist der mitogen -activated proteine Kinase-Weg (kurz: MAPK-Weg). Durch Mutationen im BRAF-, oder NRAS-Gen, auf die später genauer eingegangen wird, kommt es zu Störungen im MAPK-Weg (Roesch und Berking 2018).

Des Weiteren sind die Tumorzellen in der Lage, Teile des Immunsystems zu modulieren. Durch die Expression von PD-L1 und PD-L2 wirken sie inhibitorisch auf aktivierte T-Lymphozyten und schützen sich so vor der Immunantwort des Körpers. Diese Liganden des PD1 (programmed cell death proteine) werden physiologisch von körpereigenen Zellen exprimiert, um sich z.B. bei Virusinfektionen vor einer überschießenden Immunantwort zu schützen (Schadendorf et al. 2018).

Das Entdecken dieser Vorgänge im MM hat dazu geführt, dass sich die Therapie des MM in den letzten Jahren deutlich gewandelt hat.

## 2.3 KLASSIFIKATION

Zur Klassifikation der Ausbreitung des MM dient aktuell die achte Ausgabe der AJCC-Klassifikation aus dem Jahr 2017. Bei der TNM-Klassifikation der AJCC wird die Dicke des Primärtumors mit oder ohne Ulzeration (T), der Befall regionärer Lymphknoten (N) und das Bestehen von Fernmetastasen (M) beachtet (Gershenwald et al. 2017).

Die Tumordicke nach Breslow wird in Millimeter angegeben und in T1 bis T4 unterteilt, wobei T1 einer Tumordicke von <0,8 mm, T2 1-2 mm, T3 2-4 mm und T4 >4 mm entspricht. Bei der Klassifikation T1 bezeichnet der Zusatz „a“, dass der Primärtumor kleiner 0,8 mm ist und keine Ulzerationen aufweist. Der Zusatz „b“ beschreibt einen Primärtumor zwischen 0,8 und 1 mm Dicke mit oder ohne Ulzerationen, oder einen Primärtumor kleiner als 0,8 mm mit Ulzerationen. Bei den Klassifikationen T2 bis T4 kennzeichnet der Zusatz „a“ das Fehlen von Ulzerationen, der Zusatz „b“ das Vorhandensein von Ulzerationen. Nach der neuen Klassifikation von 2017 wird die

Dicke des Primärtumors auf Zehntel-Millimeter gerundet und dokumentiert. Die Angabe Tis beschreibt ein Melanoma In-situ ohne invasives Wachstum, T0 das Fehlen des Primärtumors, beispielsweise bei Lymphknotenmetastasen ohne auffindbares Primum und Tx wird verwendet, wenn die Tumordicke nicht angegeben werden kann. Die 10-Jahres-Überlebensraten für Patienten mit einer Tumorklassifikation T1aN0 liegen bei 98 %, während sie für Patienten mit einer Tumorklassifikation T4bN0 bei 75 % liegen. Die Überlebensraten in der achten Ausgabe der AJCC -Klassifikation von 2017 sind in allen T-Stadien höher als in der siebten Ausgabe der AJCC-Klassifikation von 2009. Dort lagen die 10-Jahres-Überlebensraten für Patienten mit einer Tumorklassifikation T1aN0 bei 93 % und für Patienten mit T4bN0 bei 39 %. Tabelle 1 zeigt die Aufstellung der aktuellen T-Klassifikation (Gershenwald et al. 2017).

**Tab. 1:** Darstellung der T-Klassifikation nach Gershenwald et al. (Gershenwald et al. 2017)

<b>T-Klassifikation</b>		<b>Tumordicke</b>	<b>Ulzerationsstatus</b>
Tx:	Tumordicke kann nicht beurteilt werden	Entfällt	Entfällt
T0:	Fehlen des Primärtumors	Entfällt	Entfällt
Tis:	Melanoma In-situ	Entfällt	Entfällt
T1		≤1,0 mm	Unbekannt oder nicht angegeben
	T1a	<0,8 mm	Ohne Ulzeration
	T1b	<0,8 mm	Mit Ulzeration
		0,8-1,0 mm	Mit oder ohne Ulzeration
T2		>1,00-2,00 mm	Unbekannt oder nicht angegeben
	T2a	>1,00-2,00 mm	Ohne Ulzeration
	T2b	>1,00-2,00 mm	Mit Ulzeration
T3		>2,00-4,00 mm	Unbekannt oder nicht angegeben
	T3a	>2,00-4,00 mm	Ohne Ulzeration
	T3b	>2,00-4,00 mm	Mit Ulzeration
T4		>4,00 mm	Unbekannt oder nicht angegeben
	T4a	>4,00 mm	Ohne Ulzeration
	T4b	>4,00 mm	Mit Ulzeration

Die N-Klassifikation gibt Auskunft über die Ausbreitung der regionalen Metastasierung, sowohl im Lymphabflussgebiet als auch die Ausbreitung regionärer Satellitenmetastasen, Mikrosatellitenmetastasen oder In-transit Metastasen. N1 beschreibt einen betroffenen Lymphknoten, N2 zwei bis drei Lymphknoten und N3 vier oder mehr als vier betroffene regionäre Lymphknoten. Klinisch okkulte Metastasen, die nur mikroskopisch nachweisbar sind, werden mit „a“ gekennzeichnet. Klinisch nachweisbare Metastasen, die makroskopisch nachweisbar sind, werden mit „b“ beschrieben. Mit dem Zusatz „c“ werden Mikrosatellitenmetastasen, Satellitenmetastasen und In-transit Metastasen beschrieben. Je nachdem wie viele Lymphknoten betroffen sind, werden die Patienten entsprechend der Anzahl der betroffenen Lymphknoten in N1c bis N3c eingeteilt. Zur Veranschaulichung der Einteilung dient Tabelle 2 (Gershenwald et al. 2017).

**Tab. 2:** Darstellung der N-Klassifikation nach Gershenwald et al. (Gershenwald et al. 2017)

<b>N-Klassifikation</b>	<b>Anzahl betroffener Lymphknoten (LK)</b>	<b>Vorhandensein von In-Transit-, Satelliten-, und-/oder-Mikrosatellitenmetastasen</b>
NX	Regionäre LK nicht beurteilt	Nein
N0	Keine regionären LK-Metastasen vorhanden	Nein
N1	Ein betroffener LK, oder jede Anzahl von In-Transit-, Satelliten-, und-/oder-Mikrosatellitenmetastasen ohne betroffene LK	
N1a	Ein LK betroffen, klinisch okkult	Nein
N1b	Ein LK betroffen, klinisch diagnostiziert	Nein
N1c	Kein LK betroffen	Ja
N2	Zwei oder drei betroffene LK, oder jede Anzahl von In-Transit-, Satelliten-, und-/oder- Mikrosatellitenmetastasen ohne betroffene LK	
N2a	Zwei oder drei betroffene LK, klinisch okkult	Nein
N2b		Nein
N2c	Zwei oder drei betroffene LK, mind. einer davon klinisch diagnostiziert Ein LK klinisch diagnostiziert oder okkult	Ja
N3	Vier oder mehr betroffene LK, oder jede Anzahl von In-Transit-, Satelliten-, und-/oder- Mikrosatellitenmetastasen mit zwei oder mehr betroffenen LK, oder jede	

	Anzahl von „matted“ LK mit oder ohne Vorhandensein von In-Transit-, Satelliten-, und-/oder- Mikrosatellitenmetastasen	
N3a	Vier oder mehr betroffene LK, klinisch occult	Nein
N3b	Vier oder mehr betroffene LK von denen mind. einer klinisch diagnostiziert, oder das Vorhandensein jeder Anzahl an „matted“ LK	Nein
N3c	Zwei oder mehr betroffene LK, klinisch okkult oder klinisch diagnostiziert und/oder das Vorhandensein jeglicher Anzahl an „matted“ LK	Ja

Fernmetastasen werden mit M0 bis M1d beschrieben, wobei M0 das Fehlen von Fernmetastasen angibt. M1a kennzeichnet Fernmetastasen in Haut, Weichteilgeweben einschließlich Muskelgewebe oder Lymphknoten jenseits der regionären Lymphknoten. M1b kennzeichnet Lungenmetastase(n) mit oder ohne M1a-Metastasierung. Weitere Fernmetastasierungen in Organe außerhalb des zentralen Nervensystems werden mit M1c beschrieben. Auch hier können M1a- und M1b-Fernmetastasierungen bestehen oder fehlen. Fernmetastasen in das zentrale Nervensystem mit oder ohne M1a-, M1b, und/oder M1c-Metastasierung werden als M1d-Metastasierung dokumentiert. Der Zusatz 0 oder 1 zu den jeweiligen Fernmetastasierungen beschreibt erhöhte Laktatdehydrogenasewerte (1) oder normwertige Werte der Laktatdehydrogenase (0) (Gershenwald et al. 2017).

**Tab. 3:** M-Klassifikation nach Gershenwald et al. (Gershenwald et al. 2017)

M-Klassifikation	Art der Fernmetastasierung	LDH
M0	Keine Fernmetastasierung	Entfällt
M1	Fernmetastasierung vorhanden	Siehe unten
M1a	Metastasen in Haut, Weichteilgewebe inkl. Muskel und/oder nicht regionäre Lymphknoten	Nicht dokumentiert oder unspezifisch
M1a(0)		Nicht erhöht
M1a(1)		Erhöht

M1b	Fernmetastasierung in die Lunge mit oder ohne M1a-Metastasierung	Nicht dokumentiert oder unspezifisch
M1b(0)		Nicht erhöht
M1b(1)		Erhöht
M1c	Fernmetastasierung in Organe außer ZNS mit oder ohne M1a- oder M1b-Metastasierung	Nicht dokumentiert oder unspezifisch
M1c(0)		Nicht erhöht
M1c(1)		Erhöht
M1d	Fernmetastasierung ins ZNS mit oder ohne M1a-, M1b- oder M1c-Metastasierung	Nicht dokumentiert oder unspezifisch
M1d(0)		Nicht erhöht
M1d(1)		Erhöht

Entsprechend der TNM-Klassifikation können MM in ihre Tumorstadien I-IV eingeteilt werden. Die Stadieneinteilung erfolgt wie in Tabelle 4 dargestellt.

**Tab. 4:** Stadieneinteilung nach TNM-Klassifikation nach Gershenwald et al. (Gershenwald et al. 2017)

T-Klassifikation	N-Klassifikation	M-Klassifikation	Stadium
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1a	N0	M0	IA
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
T0	N1b, N1c	M0	IIIB
T0	N2b, N2c, N3b oder N3c	M0	IIIC
T1a/b – T2a	N1a oder N2a	M0	IIIA
T1a/b – T2a	N1b/c oder N2b	M0	IIIB
T2b/T3a	N1a – N1b	M0	IIIB
T1a – T3a	N2c oder N3a/b/c	M0	IIIC
T3b/T4a	Jedes N ≥ N1	M0	IIIC
T4b	N1a – N2c	M0	IIIC
Jedes T, Tis	Jedes N	M1	IV

Die 5-Jahres-Überlebensraten für Patienten mit einem MM im Stadium III liegen bei 93 % für Patienten mit Stadium IIIA, bei 83 % für Patienten mit Stadium IIIB, bei 69 % für Patienten mit Stadium IIIC und bei 32 % für Patienten mit Stadium IIID. In der siebten Ausgabe der AJCC-Klassifikation von 2009 lagen die 5-Jahres-Überlebensraten bei 78 %, 59 % und 40 % für die Stadien IIIA, IIIB und IIIC. Für Patienten im Stadium IV konnten Gershenwald et al. keine vergleichenden Aussagen treffen. Dies ist der begrenzten Verfügbarkeit aktueller Daten geschuldet sowie der Tatsache, dass sich die Überlebenszeiten der Patienten im Stadium IV in der Vergangenheit kaum unterschieden. Durch die Entwicklung der neuen systemischen Therapien wird eine deutliche Verbesserung des Gesamtüberlebens für Patienten im Stadium IV angenommen (Gershenwald et al. 2017).

## 2.4 DIAGNOSTIK

Um ein MM beim Patienten diagnostizieren zu können, sollte zunächst das gesamte Integument des Patienten gründlich inspiziert werden. Zusätzlich sollten angrenzende Schleimhäute eingesehen werden. Erfahrene Dermatologen weisen dabei eine Sensitivität von ca. 60 % auf. Um die Sensitivität zu verbessern, sollte eine Dermatoskopie der betroffenen Hautareale durchgeführt werden. Mithilfe der Dermatoskopie kann der Untersucher nicht nur auf die Haut schauen, sondern bekommt Einblicke in die obersten Hautschichten der Patienten. In Metaanalysen von Studien von 1987-2000 wurde gezeigt, dass die Dermatoskopie bei geübten Untersuchern die Sensitivität, ein MM klinisch zu diagnostizieren, signifikant erhöht (Kittler et al. 2002).

Zur weiteren Diagnostik kann die sequenzielle digitale Dermatoskopie (SDD) herangezogen werden. Hierbei können kleine Veränderungen der Pigmentläsionen, die primär keinen Malignitätsverdacht aufweisen, digital gespeichert und im zeitlichen Verlauf besser beurteilt werden. So können vor allem Frühstadien eher erkannt werden. Des Weiteren dient die Ganzkörperphotographie der Früherkennung von MM bei Risikopatienten. Weitere diagnostische Möglichkeiten stellen die konfokale

Laserscanmikroskopie, Multiphotonenlasertomographie, oder die optische Kohärenztomographie dar (Eigentler et al. 2018).

Seit 2008 haben alle in Deutschland gesetzlich Krankenversicherten ab 35 Jahren alle zwei Jahre Anspruch auf ein Hautkrebs-Screening durch speziell qualifizierte Ärzte. Dabei wird das komplette Integument des Patienten auf mögliche Hautkrebsläsionen untersucht (Eigentler et al. 2018). Zusätzlich kann den Patienten zu regelmäßigen Selbstkontrollen der Pigmentmale gemäß der ABCDE-Regel geraten werden (Abbildung 8). Entsprechend dieser Regel sollten die Pigmentmale nach Asymmetrie (A), Begrenzung (B), Farbe (C, Colour= engl. Farbe), Durchmesser (D) und Evolution (E) beurteilt werden und bei Auffälligkeiten ein Arzt aufgesucht werden (Titus 2013).



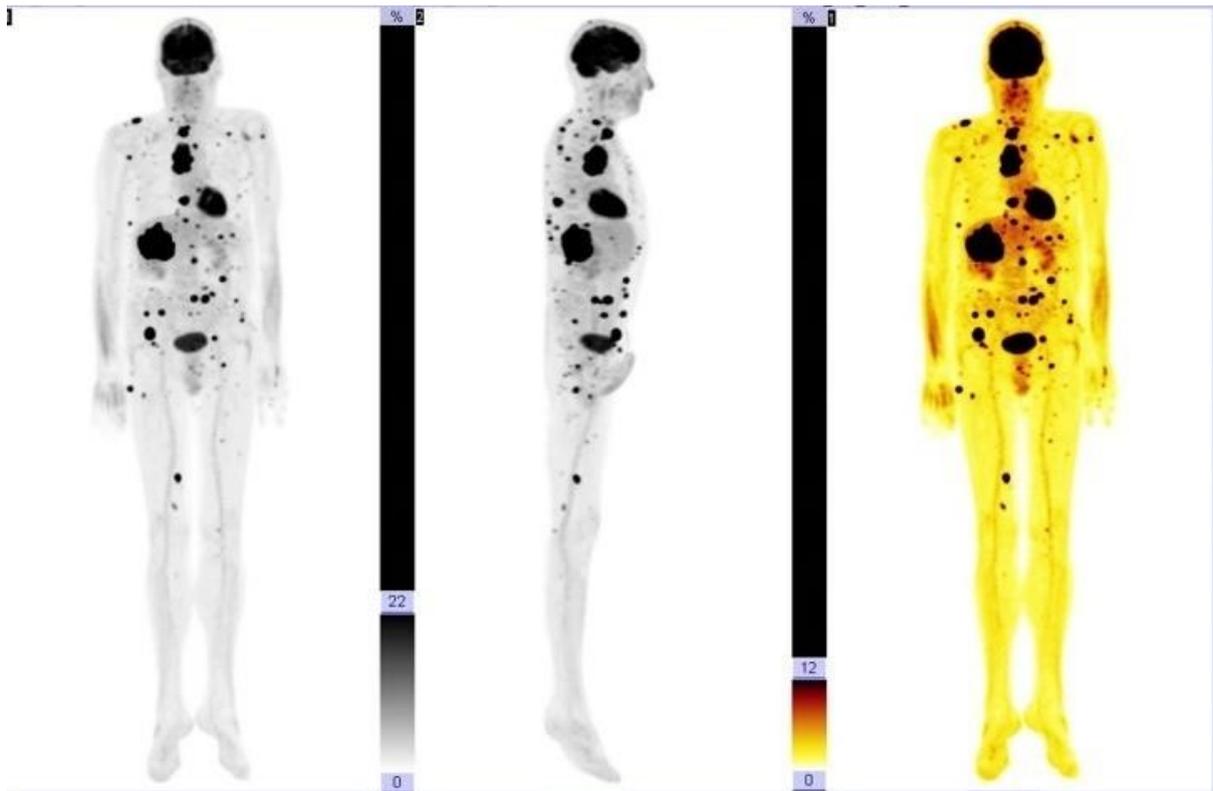
**Abb. 8:** SSM zur Darstellung der ABCDE-Regel

Besteht ein klinischer Verdacht auf ein MM, sollte dieses zunächst mit einem kleinen Sicherheitsabstand komplett exzidiert werden und vom Histopathologen untersucht werden. Dabei wird der histologische Subtyp des Tumors bestimmt und in die TNM-Klassifikation eingeteilt. Auf der Grundlage der AJCC Klassifikation von 2017 gehen die maximale Tumordicke nach Breslow, das Vorhandensein von Ulzerationen und die Mitoserate mit in die Beurteilung ein. Bestätigt der Pathologe den Verdacht auf ein MM, muss mit einem größeren Sicherheitsabstand nachexzidiert werden (Gershenwald et al. 2017).

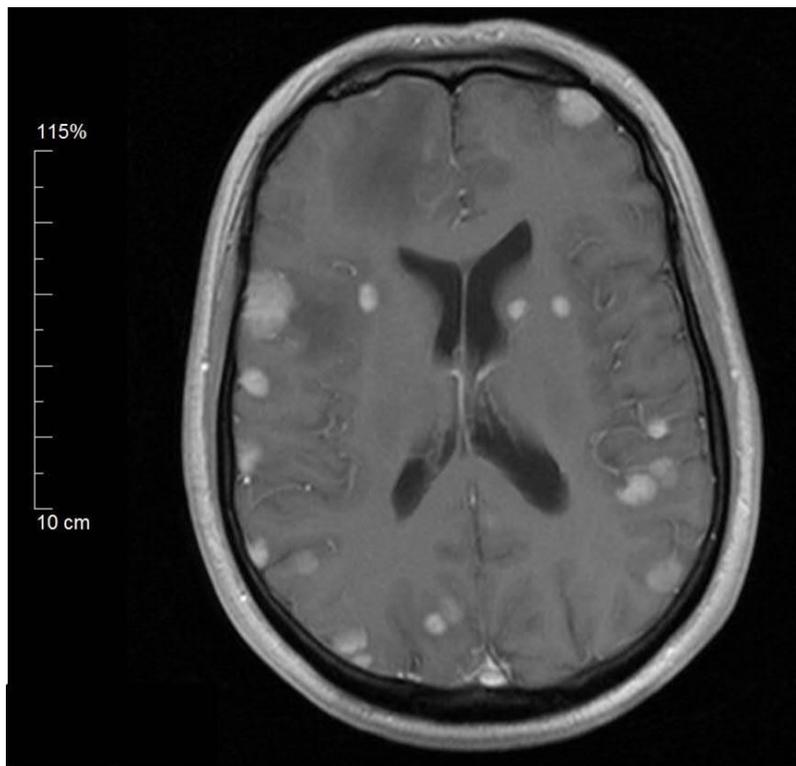
Anschließend wird eine initiale Ausbreitungsdiagnostik durchgeführt. Diese wird auf jeden Patienten, je nach Symptomatik und Krankheitsstadium speziell zugeschnitten. Zur initialen Ausbreitungsdiagnostik bis Stadium IIB zählen zu den bereits genannten Untersuchungen, wie die komplette Inspektion des Integuments mit angrenzenden Schleimhäuten und der Palpation der Lymphabstromgebiete und Lymphknotenstationen, zusätzlich die Sonografie der Lymphknoten und die Bestimmung des Tumormarkers S100 (Eigentler et al. 2018).

Ein weiterer wichtiger Schritt zur klinischen Stadieneinteilung ist die Wächterlymphknotenbiopsie. Sie wird ab einer Tumordicke von  $> 1,0\text{mm}$  empfohlen und dient der N-Klassifikation und der Planung des weiteren therapeutischen Procederes. Die Rate der positiven Wächterlymphknotenbefunde steigt signifikant mit der Tumordicke, dem Vorhandensein von Ulzerationen und der Mitoserate des Primärtumors an (Wagner et al. 2000). In der neuen Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge des malignen Melanoms“ von 2018 wird empfohlen bei zusätzlichen Risikofaktoren für einen positiven Wächterlymphknoten die Wächterlymphknotenbiopsie schon bei einer Tumordicke zwischen  $0,75\text{ mm}$  bis  $1,0\text{ mm}$  durchzuführen. Zusätzliche Risikofaktoren sind junges Alter der Patienten ( $< 40$  Jahre), das Vorhandensein von Ulzerationen und eine erhöhte Mitoserate (Eigentler et al. 2018).

Ab Stadium III und bei klinischem Verdacht auf Fernmetastasen werden weitere Diagnoseverfahren angewandt. Zum Einsatz kommen Lymphknoten - und Abdomensonografie, Schnittbildverfahren wie PET (Abbildung 9), CT oder PET-CT und die Skelettszintigraphie zum Nachweis von Knochenmetastasen. Bei Verdacht auf Gehirnmastasen sollte ein Schädel-MRT durchgeführt werden (Eigentler et al. 2018).



**Abb. 9:** 18F-FDG-PET-Ansicht eines Patienten aus unserer Kohorte mit multiplen Muskel-, Weichteil- sowie Lymphknotenmetastasen



**Abb. 10:** MRT-Schädel mit Darstellung multipler Gehirnmastasen mit teils sichtbarem Umgebungsödem

Des Weiteren kommt der Bestimmung von Laktatdehydrogenase (LDH) und S100 im Blut eine besondere Rolle zu. S100 ist ein Calcium-bindendes Protein, das eine wichtige Rolle in verschiedenen Zellprozessen, wie z.B. der Zellteilung und Zelldifferenzierung spielt. S100 wird als immunhistochemischer Marker für das MM verwendet. Eine schon 1997 veröffentlichte Studie zeigte höhere S100-Konzentrationen im Serum der Patienten mit höheren Tumorstadien. Außerdem wurde gezeigt, dass S100 sich als Verlaufsparemeter eignet, indem steigende S100-Werte eine Progression der Krankheit anzeigen und fallende S100-Werte eine Regression der Krankheit darstellen (Henze et al. 1997). Dies wurde auch in neueren Studien bestätigt (Cao et al. 2007, Wevers et al. 2013). Die LDH ist ein prognostischer Parameter, der vor allem im fortgeschrittenen Stadium des MM zum Einsatz kommt. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass erhöhte LDH-Werte im fernmetastasierten Stadium mit einem schlechteren Gesamtüberleben einhergehen (Weide et al. 2012, Frauchiger et al. 2016). Wie im Kapitel Klassifikation gezeigt, geht die LDH als prognostischer Faktor mit in die M-Klassifikation des AJCC 2017 ein (Gershenwald et al. 2017).

Die Metaanalyse von Xing et al. aus dem Jahr 2011 zeigt, dass die Lymphknotenonografie die höchste Sensitivität und Spezifität zur Diagnostik von regionären Lymphknotenmetastasen besitzt. Außerdem wurde gezeigt, dass die PET-CT die höchste Sensitivität und Spezifität zur Diagnostik von Fernmetastasen aufweist (Xing et al. 2011).

Ab Stadium IIIB sollte eine molekularpathologische Diagnostik des MM erfolgen. Hierbei wird empfohlen das Tumormaterial auf BRAF-, NRAS- und c-kit-Mutationen zu testen. Die häufigste Mutation in MM ist die BRAF-Mutation, welche in 50-60 % aller Fälle vorkommt (Davies et al. 2002). Die zweithäufigste Gen-Mutation in MM ist die NRAS-Mutation. Sie tritt mit einer Häufigkeit von ca. 15 % auf (Colombino et al. 2012). Da NRAS- und BRAF-Mutationen nicht gemeinsam auftreten, sollte im Rahmen einer Stufendiagnostik zuerst auf eine BRAF-Mutation getestet werden und bei negativem Ergebnis ein NRAS-Mutationsstest durchgeführt werden. Die c-kit-Mutation lässt sich bei ca. 5 % der akralen und mukosalen Melanome nachweisen. Die Testung auf c-kit-Mutationen sollte sich auf diese Melanomgruppen beschränken (Eigentler et al. 2018).

## 2.5 THERAPIE

Die Therapie des MM besteht primär in der radikalen Exzision des Primärtumors. Bei inoperablem Primärtumor oder R1/R2-Resektion nach Exzision kommt zusätzlich der Strahlentherapie eine besondere Rolle zu. In höheren Stadien kommen medikamentöse Ganzkörpertherapien zum Einsatz (Eigentler et al. 2018).

### 2.5.1 Operative Therapie

Bei klinischem Verdacht auf ein MM sollte zunächst eine Primärexzision des gesamten Tumors mit einem Sicherheitsabstand von wenigen Millimetern erfolgen (Tronnier et al. 1997). Anschließend wird unter Berücksichtigung der Tumordicke nach Breslow im Tumorgebiet nachexzidiert. Dabei gilt für eine Tumordicke  $< 1-2$  mm ein Sicherheitsabstand von 1 cm und für eine Tumordicke  $> 2,01$  mm ein Sicherheitsabstand von 2 cm (Eigentler et al. 2018). In der 2009 veröffentlichten Arbeit von Sladden et al. wurden 5 randomisierte Studien verglichen. Dabei wurden enge (1-2 cm) und weite (3-5 cm) Sicherheitsabstände in Abhängigkeit der Tumordicke nach Breslow untersucht. Es zeigte sich kein signifikanter Vorteil im Gesamtüberleben zwischen den beiden Sicherheitsabständen, allerdings eine leichte Verringerung der Mortalität der Patienten mit weitem Sicherheitsabstand (Sladden et al. 2009). In der Tiefe sollte das Gewebe bis zur Muskelfaszie entfernt werden, da eine zusätzliche Exzision der Faszie keinen Vorteil bei Rezidiv- oder Überlebensraten bietet (Kenady et al. 1982).

Wie im Kapitel Diagnostik beschrieben, dient die Wächterlymphknotenbiopsie der Einteilung in das klinische Tumorstadium und der Planung der weiteren Therapie. Bei positiver Wächterlymphknotenbiopsie oder eindeutigem sonographischen Verdacht auf eine lymphogene Metastasierung ist eine therapeutische Lymphadenektomie im betroffenen Abflussgebiet empfohlen, um die Anzahl lokaler Rezidive zu verringern und einen kurativen Therapieansatz zu verfolgen. Besteht bei Patienten ein Metastasendurchmesser von  $< 0,1$  mm oder sind nur Einzelzellen im Wächterlymphknoten befallen, kann auf eine komplette Lymphknotendisektion verzichtet werden. Bei einem Metastasendurchmesser von 0,1 mm bis 1,0 mm kann dem Patienten eine komplette Lymphknotendisektion angeboten werden. Bei einem

Metastasendurchmesser von  $> 1,0$  mm sollte dem Patienten eine komplette Lymphknotendisektion angeboten werden. Vor einer Lymphknotendisektion sollte eine bildgebende Ausbreitungsdiagnostik mittels Lymphknotensonographie oder einer PET-CT durchgeführt werden. Gegebenenfalls kann im Vorfeld der Operation eine Lymphabflussszintigraphie durchgeführt werden (Eigentler et al. 2018).

## 2.5.2 Adjuvante Therapie

Um eine bessere lokale Tumorkontrolle zu erreichen, wird unter bestimmten Voraussetzungen die adjuvante Radiotherapie nach Lymphadenektomie empfohlen. Zur Indikation der postoperativen adjuvanten Radiotherapie sollte mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt sein:

- 3 befallene Lymphknoten
- Kapseldurchbruch
- Lymphknotenmetastase  $> 3$ cm
- lymphogenes Rezidiv

Eine von Henderson et al. durchgeführte prospektive Phase 3 Studie zeigte, dass Patienten mit einer postoperativen adjuvanten Radiotherapie deutlich weniger Rezidive in der entsprechenden Lymphknotenregion erlitten (21 %) als die Patienten ohne adjuvante Strahlentherapie (36 %). Das Gesamtüberleben wurde allerdings nicht beeinflusst (Henderson et al. 2015).

Die adjuvante Chemotherapie findet im nicht-fernmetastasierten Stadium des MM keine Anwendung. Es wurde in mehreren Studien gezeigt, dass die adjuvante Chemotherapie mit Dacarbazin keinen Vorteil im Gesamtüberleben bietet (Hill et al. 1981, Veronesi et al. 1982).

Die adjuvante medikamentöse Therapie im Stadium II bis III hat sich in den letzten Jahren stark verändert. Eine von Garbe et al. 2011 veröffentlichte Metanalyse zeigte ein signifikant verlängertes krankheitsfreies Überleben unter Interferontherapie gegenüber Patienten ohne adjuvante Interferontherapie (Garbe et al. 2011). Heutzutage kann eine Interferontherapie Patienten im Stadium II angeboten werden. Sie besitzt heute aufgrund neu zugelassener und wirksamerer Substanzen geringere

klinische Relevanz als früher. Dies ist in der aktuellen Leitlinie von 2018 noch nicht aufgeführt (Eigentler et al. 2018).

Die adjuvante Therapie mit Pembrolizumab ist seit Dezember 2018 für Patienten im Stadium III mit Lymphknotenbeteiligung nach vollständiger Resektion zugelassen. In einer randomisierten doppelblinden Phase III Studie konnte an 1019 Stadium III-Patienten ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben gegenüber einer Placebo-Therapie nachgewiesen werden (Coens et al. 2018). Neben Pembrolizumab steht auch Nivolumab seit August 2018 zur adjuvanten Therapie im Stadium III für alle Patienten zu Verfügung. Zusätzlich kann Nivolumab auch im resezierten Stadium IV adjuvant eingesetzt werden. In einer randomisierten doppelblinden Phase III Studie konnte ein signifikant verlängertes progressionsfreies Überleben für Patienten im resezierten Stadium IIIB, IIIC und IV gegenüber Ipilimumab nachgewiesen werden. Das progressionsfreie Überleben lag für die Patienten, die Nivolumab erhielten bei 70,5 % und für Patienten, die Ipilimumab erhielten bei 60,8 % (Weber et al. 2017).

Für BRAF-mutierte Patienten im Stadium III ist seit August 2018 die adjuvante Therapie mit der Kombinationstherapie aus Dabrafenib und Trametinib zugelassen. Die Wirksamkeit dieser Kombinationstherapie wurde in mehreren Studien bewiesen. Sie zeigte ein verbessertes progressionsfreies Überleben und ein verbessertes Gesamtüberleben. In der von Long et al. 2017 durchgeführten Studie lag das progressionsfreie Überleben nach drei Jahren in der Gruppe der Kombinationstherapie bei 58 %, während es in der Placebo-Gruppe bei 38 % lag. Das Gesamtüberleben nach 3 Jahren lag in der Kombinationstherapie-Gruppe bei 86 % und in der Placebo-Gruppe bei 77 % (Long et al. 2017). In der von Hauschild et al. 2018 veröffentlichten Studie war das Fernmetastasen -freie Zeitintervall in der Gruppe der Patienten, die die Kombinationstherapie aus Dabrafenib und Trametinib erhielten, ebenfalls länger als in der Placebo-Gruppe (Hauschild et al. 2018).

### **2.5.3 Therapie im fortgeschrittenen Stadium III und IV**

Lokoregionäre kutane und subkutane Metastasen sollten operabel entfernt werden, sofern eine R0-Resektion möglich ist. Bei inoperablen oder multiplen In -Transit- oder Satelliten-Metastasen kann palliativ eine Antikörpertherapie mit Pembrolizumab oder Nivolumab begonnen werden. Dieser Therapieansatz ist noch nicht in der aktuellen

Leitlinie vertreten. Außerdem ist die Strahlentherapie zur lokalen Tumorkontrolle eine alternative Therapiemöglichkeit (Eigentler et al. 2018).

Auch im fernmetastasierten Stadium des MM sollte eine R0-Resektion der Fernmetastasen angestrebt werden. Ist dies aufgrund multipler oder inoperabler Metastasen nicht möglich, sollte eine medikamentöse Ganzkörpertherapie eingeleitet werden (Eigentler et al. 2018).

#### **2.5.4 Systemische Therapie des metastasierten malignen Melanoms**

Welche medikamentöse Ganzkörpertherapie dem Patienten angeboten wird, hängt auch davon ab, welchen BRAF-Mutationsstatus der Patient aufweist. BRAF-mutierten Patienten kann im fernmetastasierten Stadium eine Kombinationstherapie aus BRAF-Kinase-Inhibitoren und MEK-Inhibitoren angeboten werden (Eigentler et al. 2018). Dazu stehen im Moment drei verschiedenen Kombinationstherapien zur Verfügung. Zu diesen Kombinationen aus BRAF-Kinase-Inhibitoren und MEK-Inhibitoren zählen Vemurafenib und Cobimetinib, Dabrafenib und Trametinib sowie Encorafenib und Binimetinib (Cosgarea et al. 2017).

Die Wirksamkeit dieser Kombinationstherapien wurde in mehreren Studien untersucht und belegt. Die Wirksamkeit von Dabrafenib und Trametinib gegenüber Dabrafenib und Placebo wurde in einer doppelblinden Phase 3 Studie an Patienten im Stadium IIIC und IV nachgewiesen. Das mediane Gesamtüberleben lag in der Dabrafenib und Trametinib Gruppe bei 25,1 Monaten und in der Dabrafenib und Placebo Gruppe bei 18,7 Monaten. Das mediane progressionsfreie Überleben betrug in der Dabrafenib und Trametinib Gruppe 11 Monate, während es in der Dabrafenib und Placebo Gruppe bei 8,8 Monaten lag (Long et al. 2015). Außerdem wurde in einer anderen Studie die Wirksamkeit dieser Kombinationstherapie gegenüber der Monotherapie mit Vemurafenib nachgewiesen. Die Überlebensrate nach einem Jahr lag bei der Kombinationstherapie bei 72 %, während sie bei der Vemurafenib-Monotherapie bei 65 % lag (Robert et al. 2015).

Ein verbessertes progressionsfreies Überleben und ein verbessertes Gesamtüberleben zeigte eine doppelblinde Phase 3 Studie für die Kombinationstherapie aus Vemurafenib und Cobimetinib gegenüber der Therapie mit

Vemurafenib und Placebo. Das mediane progressionsfreie Überleben lag in der Gruppe der Kombinationstherapie bei 9,9 Monaten, gegenüber 6,2 Monaten in der Gruppe der Monotherapie mit Vemurafenib. Die Ansprechrate der Kombinationstherapie aus Vemurafenib und Cobimetinib lag bei 68 %. Die Monotherapie mit Vemurafenib erreichte lediglich eine Ansprechrate von 45 % (Larkin et al. 2014).

In der großen randomisierten, multizentrischen Phase 3 COLUMBUS-Studie wurde ein signifikant längeres medianes progressionsfreies Überleben an Patienten im Stadium IIIB, IIIC und IV für die Kombinationstherapie aus Encorafenib und Binimetinib gegenüber der Encorafenib-Monotherapie und der Vemurafenib-Monotherapie nachgewiesen. Es lag für die Kombinationstherapie aus Encorafenib und Binimetinib bei 14,9 Monaten, für die Encorafenib-Monotherapie bei 9,6 Monaten und für die Vemurafenib-Monotherapie bei 7,3 Monaten (Dummer et al. 2018).

Unabhängig vom BRAF-Status sollte bei metastasierten Melanompatienten die Möglichkeit einer Immun-Checkpoint-Therapie in Betracht gezogen werden. Dazu steht zum einen Ipilimumab als Präparat zur Verfügung. Ipilimumab ist ein monoklonaler Antikörper, der das zytotoxische T-Lymphozyten-assoziierte Antigen (CTLA-4) blockiert und somit dessen hemmende Wirkung auf aktivierte T-Zellen unterbindet. Zum anderen stehen mittlerweile mit Nivolumab und Pembrolizumab zwei weitere monoklonale Antikörper zur Immun-Checkpoint-Therapie zur Verfügung. Sie richten sich gegen den Rezeptor Programmed Death 1 (PD-1). Durch die Blockade kann sein Ligand PD-L1 nicht mehr am Rezeptor binden und somit seine hemmende Wirkung auf die T-Zellen ausüben. Die Immunantwort gegen Melanomzellen wird durch Nivolumab und Pembrolizumab gesteigert (Eigentler et al. 2018).

Ipilimumab kommt heutzutage nur noch in Kombination mit Nivolumab zum Einsatz. Die 2018 veröffentlichten 4-Jahres-Follow-Up-Daten der randomisierten multizentrischen Phase 3-CheckMate 067-Studie zeigten einen signifikanten Überlebensvorteil für Patienten im Stadium III und IV mit der Kombinationstherapie aus Ipilimumab und Nivolumab sowie für Patienten mit einer Nivolumab-Monotherapie, gegenüber Patienten mit einer Ipilimumab-Monotherapie. Das mediane Gesamtüberleben nach 4 Jahren lag für die Patienten mit der Nivolumab-Monotherapie bei 36 Monaten und für die Patienten mit der Ipilimumab-Monotherapie bei 18,6 Monaten. Für die Patienten mit der Kombinationstherapie aus Nivolumab und

Ipilimumab konnte kein medianes Gesamtüberleben berechnet werden, da nach vier Jahren noch mehr als die Hälfte der Patienten lebten. (Hodi et al. 2018).

Die Wirksamkeit von Pembrolizumab gegenüber Ipilimumab wurde in der randomisierten multizentrischen Phase 3-Keynote006-Studie nachgewiesen. Es wurde gezeigt, dass Pembrolizumab ein verbessertes Gesamtüberleben gegenüber Ipilimumab aufweist. Die 2-Jahres-Überlebensrate für Patienten, die Pembrolizumab erhielten, lag bei 55 %. Für Patienten, die Ipilimumab erhielten, lag sie bei 43 % (Schachter et al. 2017).

Kommen die o.g. Therapieschemata nicht infrage, sollte für die Patienten immer ein möglicher Studieneinschluss geprüft werden. Ist der Patient für Studien ungeeignet, kann ihm im Rahmen einer Secondline- oder Thirdline-Therapie eine Chemotherapie mit Dacarbazin angeboten werden (Eigentler et al. 2018). Die Ansprechrate variiert stark in den Angaben und liegt bei ca. 15 %. Die mittlere Überlebenszeit für Patienten im Stadium IV unter Dacarbazin-Therapie liegt bei 6,4 Monaten (Middleton et al. 2000).

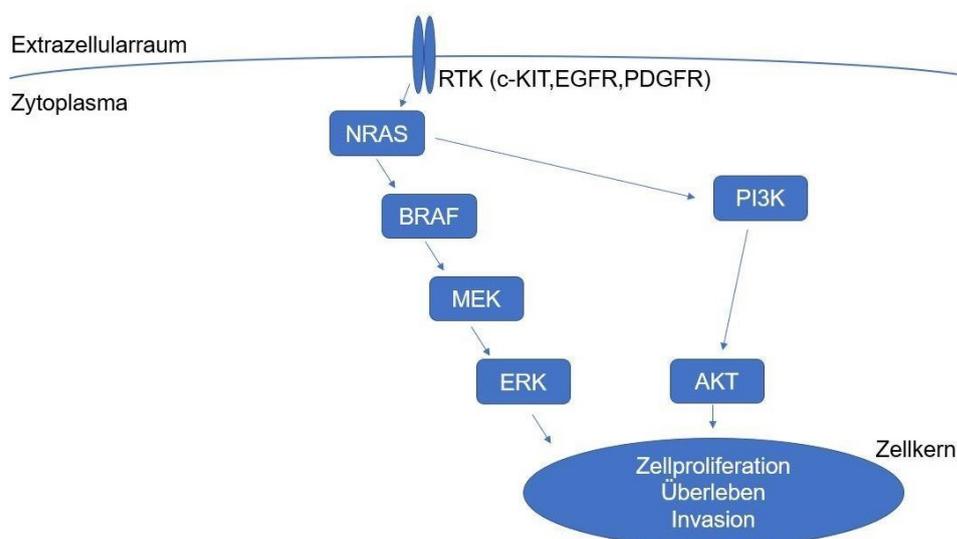
## **2.6 MAP-KINASE-WEG UND B-RAF-MUTATION**

Der MAP-Kinase-Weg ist an einer Vielzahl von Zellprozessen beteiligt, wie z.B. der Zellproliferation, der Apoptose und der Zelldifferenzierung. Er beginnt mit der Aktivierung einer membranständigen Rezeptortyrosinkinase (RTK). Beispiele für diese Rezeptortyrosinkinasen sind der Epidermal-Growth-Factor-Receptor (EGFR), der Platelet-Derived-Growth-Factor-Receptor (PDGFR) oder c-KIT. Diese RTK's wiederum aktivieren mit ihrem zytoplasmatischen Anteil das RAS, indem sie das inaktive RAS-GDP in die aktive Form RAS-GTP umwandeln. Im nächsten Schritt aktiviert das RAS-GTP entweder die Serin/Threonin-Kinase RAF oder die Phosphatidylinositol-3-Kinase. Letztere aktiviert über mehrere Zwischenschritte die AKT-Kinase. Über diesen Signalweg werden Zellprozesse wie Zellproliferation und Zelldifferenzierung gesteuert (Fecher et al. 2008).

Aktiviert RAS-GTP die Serin/Threonin-Kinase RAF, aktiviert diese im nächsten Schritt die MEK-Kinase. Die MEK-Kinase aktiviert ihrerseits die ERK-Kinase. Diese ERK-Kinase wiederum gelangt in den Zellkern, wo sie mit verschiedenen

Transkriptionsfaktoren interagiert und somit ebenfalls wichtige zelluläre Prozesse wie Zelldifferenzierung, Apoptose oder Zellproliferation steuert (Giehl 2005).

Abbildung 11 zeigt eine vereinfachte, schematische Darstellung des MAP-Kinase-Wegs.



**Abb. 11:** Vereinfachte Darstellung des MAP-Kinase-Wegs in malignen Melanomzellen mit den am häufigsten von Mutationen betroffenen Unterformen N-RAS und B-RAF; Pfeile zeigen die Aktivierungen der einzelnen Kinasen (adaptiert nach Fecher et al. 2008)

RAS- und RAF-Gene sind Protoonkogene. Kommt es zu Mutationen in diesen Genen, können diese über ihre Genprodukte zu einer unkontrollierten Aktivierung des MAP-Kinase-Wegs führen. Diese unkontrollierte Aktivierung des MAP-Kinase-Wegs fördert das Überleben von Melanomzellen, ihre Invasivität und schützt sie vor körpereigenen Abwehrmechanismen (Fecher et al. 2008).

Von dem membranständigen G-Protein RAS gibt es mehrere Unterformen. Die häufigste in MM mutierte Form ist das N-RAS. Es ist in ca. 14 % bis 20 % der MM mutiert (Fecher et al. 2008, Jakob et al. 2012).

Die RAF-Gene kodieren für die drei Serin/Threonin-Kinasen A-RAF, B-RAF und C-RAF. Die Kinasen A-RAF, B-RAF und C-RAF wurden in den 1980er Jahren entdeckt und sind seitdem Bestandteil intensiver Forschung (Roskoski 2010).

Im Jahr 2002 wurden erstmals Mutationen im B-RAF-Gen mittels Polymerasekettenreaktion in humanen Krebszellen nachgewiesen. In der von Davies et al. veröffentlichten Arbeit wurden 530 Krebszellreihen auf eine BRAF-Mutation getestet und in 43 Zellreihen wurde eine BRAF-Mutation nachgewiesen. Die 530 Zellreihen beinhalteten 34 Melanomzellreihen von denen 20 positiv auf eine BRAF-Mutation getestet wurden. Dies entspricht einer Rate von 59 %. Außerdem wurden BRAF-Mutationen in Zellreihen von kolorektalem Karzinom, Gliom, Lungenkarzinom, Brustkarzinom, Ovarialkarzinom, Sarkom und Leberkarzinom nachgewiesen. Die häufigste nachgewiesene Mutation in Melanomzellreihen war V600E, lokalisiert in Exon 15 und charakterisiert durch den Austausch von Valin durch Glutamat (Davies et al. 2002). Mittlerweile sind mehr als 80 verschiedene Mutationen des BRAF-Gens in MM bekannt. Während Davies et al. 2002 V600E mit einer Häufigkeit von 95 % der BRAF-Mutationen beschrieben, haben neuere große Studien gezeigt, dass die V600E-Mutation nicht so häufig ist wie ursprünglich angenommen. Die für den Austausch von Valin durch Lysin verantwortliche Mutation V600K wird dort mit einer Häufigkeit von ca. 20-30 % unter allen BRAF-Mutationen angegeben (Menzies et al. 2012, Cheng et al. 2011).

Die Mutationen V600E und V600K gehen mit einer gesteigerten Kinaseaktivität einher. Eine mögliche Erklärung für die unkontrollierte Aktivierung ist, dass der Austausch der Aminosäure Valin mit seiner hydrophoben Seitenkette durch Aminosäuren wie Lysin oder Glutamat mit hydrophilen Seitenketten die Aktivitätsdomäne der Kinase in ihre aktive Form umwandelt. Dies führt zu einer vermehrten Phosphorylierung von MEK. In der inaktiven Form ist die Aktivitätsdomäne der BRAF-Kinase in einer hydrophoben Tasche versteckt (Arkenau et al. 2011, Wan et al. 2004).

BRAF- und NRAS-Mutationen treten nicht gemeinsam auf (Eigentler et al. 2018). Neue Studien zeigen allerdings, dass es Patienten mit Co-Mutationen von BRAF und NRAS gibt. Diese entstehen aufgrund einer erworbenen Resistenz unter BRAF-Kinase-Inhibitortherapien (Raaijmakers et al. 2016, Jakob et al. 2012).

Aus der aktuellen Literatur kann man entnehmen, dass BRAF-mutierte Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose des MM jünger sind als BRAF-Wildtyp Patienten. Außerdem sind BRAF-mutierte MM häufiger am Stamm lokalisiert und metastasieren laut einigen Studien häufiger ins zentrale Nervensystem und/oder in die Leber (Chang et al. 2004, Saint-Jean et al. 2014, Lee et al. 2011, Jakob et al. 2012).

Diese Arbeit befasst sich mit dem Vergleich dieser und anderer klinischer Eigenschaften der BRAF-mutierten- und BRAF-Wildtyp Patienten an der Klinik für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena.

### 3 ZIELE DER ARBEIT

---

Die Therapie des malignen Melanoms stellt in der dermatologischen Praxis eine große Herausforderung dar. Sie hat sich in den letzten Jahren durch die Entdeckung der BRAF-Mutationen und der daraus folgenden gerichteten Therapie stark verändert. Daher ist es wichtig klinische Eigenschaften der BRAF-mutierten- und der BRAF-Wildtyp Patienten möglichst genau zu untersuchen und diese Erkenntnisse für den klinischen Alltag zu nutzen.

Aus der klinischen Praxis mit Melanompatienten am Hauttumorzentrum Jena ergab sich die Annahme, dass BRAF-mutierte Patienten ein längeres Metastasen -freies Zeitintervall aufweisen als BRAF-Wildtyp Patienten. Diese Vermutung bezog sich auf verschiedene Metastasierungszeiträume wie die Zeit von der Erstdiagnose bis zur Erstmetastasierung oder die Zeit zwischen der Stadium III- und Stadium IV-Metastasierung.

Ziel unserer Arbeit war es, die Patienten der Klinik für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena mit einem malignen Melanom im Stadium III und IV im Zeitraum von Oktober 2010 bis Januar 2019 hinsichtlich ihrer Metastasierungszeitpunkte in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus zu vergleichen. Aus den dokumentierten Metastasierungszeitpunkten sollten Metastasierungszeiträume errechnet und auf Unterschiede hinsichtlich des BRAF-Mutationsstatus ausgewertet werden.

Außerdem war es uns wichtig weitere klinisch-pathologische Eigenschaften der Patienten mit fortgeschrittenem malignem Melanom herauszuarbeiten und sie auf Unterschiede zwischen Patienten mit BRAF-Mutationen und BRAF-Wildtyp Patienten zu untersuchen, um so ein besseres Verständnis über die klinisch-pathologischen Eigenschaften BRAF-mutierter Patienten an der Klinik für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena zu erlangen.

## 4 METHODIK

---

### 4.1 STUDIENDESIGN

Bei der vorliegenden Arbeit handelt sich um eine retrospektive, monozentrische Studie an einer Kohorte von Patienten der Universitäts-Hautklinik Jena mit der Diagnose eines MM im Stadium III und IV und einer durchgeführten BRAF-Mutationsanalyse.

Die Befürwortung der retrospektiven Untersuchung zur Prüfung der Abhängigkeit des Metastasierungszeitpunktes vom BRAF-Mutationsstatus bei Patienten mit malignem Melanom im Stadium III und IV am Hauttumorzentrum erfolgte durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Jena.

### 4.2 PATIENTENKOLLEKTIV

Mithilfe des Stichwortes „BRAF“ wurden 192 Patienten im Verwaltungsprogramm x.isynet gefunden, die sich im Zeitraum von Oktober 2010 bis Januar 2019 in Behandlung in der Universitäts-Hautklinik Jena befanden. Davon wurden 27 Patienten ausgeschlossen, da sie nicht die Einschlusskriterien der Studie erfüllten.

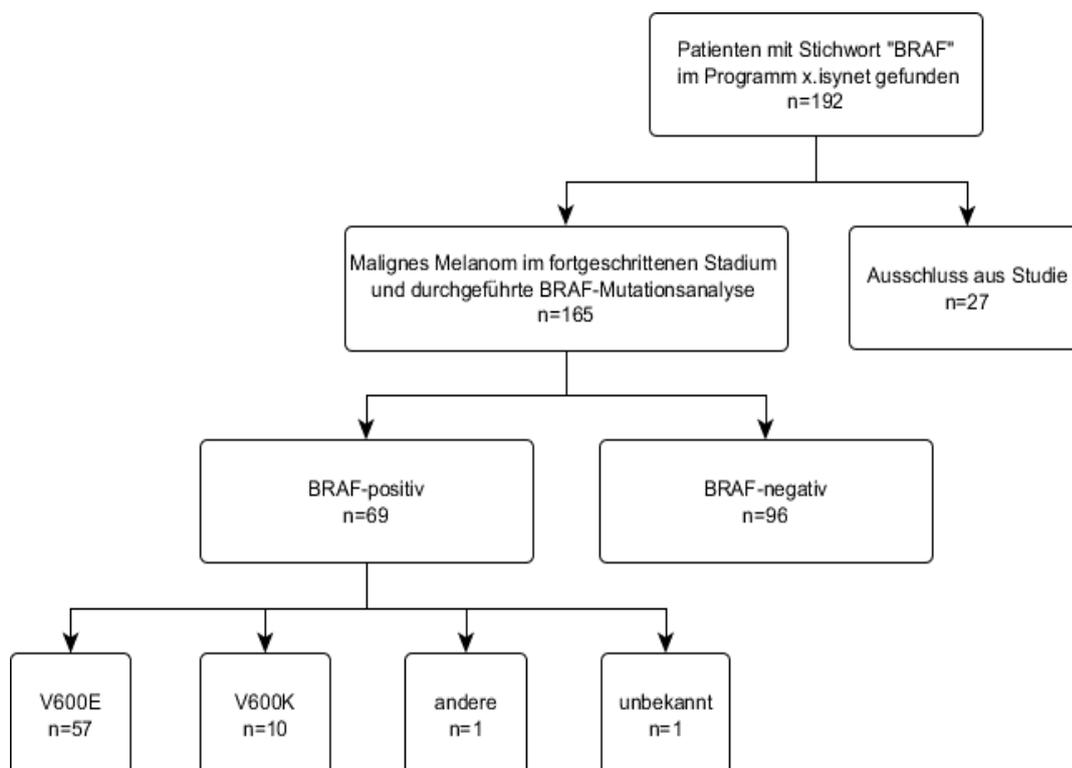
Einschlusskriterien waren:

- Ein MM im III und IV Stadium
- Eine durchgeführte BRAF-Mutationsanalyse

Zu den Ausschlusskriterien gehörten:

- Ein MM im nicht-metastasierten Stadium
- Keine durchgeführte BRAF-Mutationsanalyse

Bei insgesamt 165 Patienten wurden die zu untersuchenden Parameter erhoben und in die Exceldatenbank eingepflegt. Das untersuchte Patientenkollektiv setzte sich aus 48 weiblichen und 117 männlichen Patienten zusammen. Das mediane Alter bei Erstdiagnose des MM betrug 63 Jahre. Insgesamt wurden Patienten im Alter von 22 bis 85 Jahren bei Erstdiagnose des MM beobachtet (mittleres Alter bei Erstdiagnose 60 Jahre).



**Abb. 12:** Flussdiagramm zur Darstellung des Patientenkollektivs

### 4.3 DATENERHEBUNG

Die Datenerhebung wurde mithilfe der elektronischen Erfassungssysteme x.isynet, SAP, mediDOK und der Patientenverwaltung (stationäre elektronische Patientenakte) der Universitäts-Hautklinik Jena durchgeführt. Dazu wurde zunächst die ambulante elektronische Patientenakte des Hauttumorzentrums Jena (x.isynet) mithilfe des Stichwortes „BRAF“ durchsucht und 192 Patienten ermittelt. Anschließend wurden die Patientendaten in anonymisierter Form in eine Excel-Datenbank übernommen und die zu untersuchenden Parameter festgelegt. Die Erhebung der Daten erfolgte an Computerarbeitsplätzen der Universitäts-Hautklinik Jena. Neben den elektronischen Patientenakten wurden histologische Berichte des Instituts für Pathologie Jena, Protokolle des Tumorboards Jena, externe sowie interne Arztbriefe und Labordaten der Universitäts-Hautklinik Jena in die Auswertung miteinbezogen.

Zur Ermittlung fehlender Daten wurden das klinische Krebsregister Thüringen vom Hauttumorzentrum Jenakontaktiert.

Aufgrund der variablen Quellen konnten nicht für alle Patienten jegliche Parameter erfasst und dokumentiert werden. Wurde ein Parameter nicht erfasst, wurde er entsprechend mit „fehlend“ gekennzeichnet.

Nach der Datenerhebung wurde das Patientenkollektiv entsprechend des BRAF-Mutationsstatus in zwei Gruppen unterteilt. Sie wurden hinsichtlich des Metastasierungszeitpunktes und anderen Endpunkten, die im Folgenden beschrieben werden, verglichen.

#### 4.4 ZIELPARAMETER

- Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose  
Das Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde der elektronischen Patientendatenbank entnommen und in die Exceltabelle übertragen.
- Zeitpunkt und Ergebnis der BRAF-Mutationsanalyse  
Der Zeitpunkt der BRAF-Mutationsanalyse wurde im Datumsformat Monat/Jahr dokumentiert. Das Ergebnis der BRAF-Mutationsanalyse wurde in „negativ“, „V600E“, „V600K“ und „andere“ unterteilt.
- Zeitpunkt der Erstdiagnose  
Der Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde im Datumsformat Monat/Jahr dokumentiert.
- Melanomart und Ort des Primärtumors  
Die Melanomart und der Ort des Primärtumors wurde über die ICD-10-Codierung erfasst. Zusätzlich wurden die Melanome nach kutanem Melanom, Schleimhautmelanom, Aderhautmelanom und okkultem Melanom eingeordnet.
- Tumorstadium bei Erstdiagnose  
Das Tumorstadium bei Erstdiagnose wurde entsprechend der Tumorklassifikation nach AJCC in Stadien I-IV dokumentiert.
- Breslow-Index und Clark-Level des Primärtumors  
Breslow-Index und Clark-Level wurden entsprechend der histologischen Berichte aufgenommen. Dabei wurde der Breslow-Index in Millimeter und das Clark-Level entsprechend seiner Definition I-V übernommen. Bei

Patienten mit einem okkulten MM konnten diese Daten nicht erhoben werden und wurden mit „fehlend“ gekennzeichnet.

- Zeitpunkt und Tumorstadium bei Erstmetastasierung

Der Zeitpunkt der Erstmetastasierung wurde im Datumsformat Monat/Jahr dokumentiert. Wurde ein Patient mit einem metastasierten Melanom erstdiagnostiziert, ist der Zeitpunkt der Erstmetastasierung gleich der Erstdiagnose. Das Tumorstadium bei Erstdiagnose wird entsprechend den Tumorstadien nach AJCC I-IV angegeben.

- Auftreten lokoregionärer Metastasen und deren Therapie

Das Auftreten lokoregionärer Metastasen wurde dokumentiert. Die Therapie wurde in chirurgische und adjuvante Therapie unterteilt und ebenfalls dokumentiert.

- Zeitpunkt der Fernmetastasierung sowie Ort der Fernmetastasen und Anzahl der betroffenen Organe

Der Zeitpunkt der Fernmetastasierung wurde im Datumsformat Monat/Jahr dokumentiert. Die von der Fernmetastasierung betroffenen Organe wurden aufgelistet und die Anzahl der betroffenen Organe notiert.

- Therapie der Fernmetastasen

Die Therapie der Fernmetastasen wurde in chirurgische Therapie, Strahlentherapie und medikamentöse Ganzkörpertherapie gegliedert. Die medikamentöse Ganzkörpertherapie wurde in Erstlinien-, Zweitlinien- und Drittlinientherapie eingeteilt und jeweils die Anzahl der erhaltenen Zyklen der Therapie dokumentiert.

- Höhe des Tumormarkers S100 zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung und/oder zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung

Die Höhe des Tumormarkers S100 wurde zunächst anhand des Grenzwertes 0,105 µg/L in erhöht und normwertig eingeteilt. Anschließend wurde der genaue Wert zum Zeitpunkt der Erst- und/oder der Fernmetastasierung erfasst.

- Höhe der Laktatdehydrogenase zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung und/oder zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung

Die Höhe der Laktatdehydrogenase (LDH) wurde zunächst anhand des Grenzwertes 4,13 µmol/L\*s in erhöht und normwertig eingeteilt.

Anschließend wurde der genaue Wert zum Zeitpunkt der Erst- und/oder der Fernmetastasierung erfasst.

- Todeszeitpunkt und Todesursache verstorbener Patienten

Der Todeszeitpunkt und die Todesursache wurde den Patientenakten entnommen oder in Zusammenarbeit mit dem klinischen Krebsregister Thüringen am Hauttumorzentrum Jena ermittelt. Konnte ein Todesdatum nicht genau ermittelt werden, wurde es im Datumsformat Monat/Jahr dokumentiert.

Durch die in die Datenbank aufgenommenen Zeitpunkte konnten mehrere Zeiträume berechnet werden:

- Zeitraum zwischen Erstdiagnose und Erstmetastasierung
- Zeitraum zwischen Erstmetastasierung und Fernmetastasierung
- Zeitraum zwischen Erstdiagnose und Todeszeitpunkt

Durch die Verwendung des Alters der Patienten bei Erstdiagnose konnten Altersangaben zu anderen Zeitpunkten bestimmt werden. Dazu zählen:

- Alter zum Zeitpunkt der BRAF-Mutationsanalyse
- Alter zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung
- Alter zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung
- Alter zum Todeszeitpunkt

## **4.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG**

Die statistische Auswertung der gesammelten Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Statistik, Informatik und Datenwissenschaften des Universitätsklinikums Jena. Ansprechpartner war Univ.-Prof. Dr. med. habil., M.Sc. Applied Statistics Peter Schlattmann. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm „IBM SPSS Statistics Version 25“.

Die deskriptive Statistik des Patientenkollektivs erfolgte durch die Darstellung klinischer Parameter in tabellarischer Form unter Verwendung von Patientenzahlen, Prozentangaben und weiterer statistischer Lageparameter. Zur Veranschaulichung wurde die Verteilung der Melanomarten in einem Balkendiagramm dargestellt.

Die Ergebnisse der BRAF-Mutationsanalyse wurden durch Balkendiagramme dargestellt.

Die deskriptive Statistik der beiden Patientengruppen, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus, erfolgte durch eine tabellarische Darstellung klinischer Parameter unter Verwendung von Patientenzahlen und anderer statistischer Lageparameter. Das Alter bei Erstdiagnose wurde zusätzlich in einem Boxplot-Diagramm dargestellt und mittels Mann-Whitney-U-Test auf einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten getestet. Außerdem erfolgte die Darstellung des Alters bei Erstdiagnose in Altersgruppen in einem gruppierten Balkendiagramm.

Die Metastasierungszeitpunkte für Erst- und Fernmetastasierung wurden durch das Alter der Patienten zu den beschriebenen Zeitpunkten dargestellt. Die Altersverteilung innerhalb der untersuchten Gruppen wurde graphisch durch Boxplot-Diagramme dargestellt und mittels Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten getestet.

Für die Untersuchungen der Metastasierungszeiträume wurden diese graphisch durch Kaplan-Meier-Schätzer für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten dargestellt. Die Beschreibung der Zeiträume erfolgte durch die Angabe der medianen Überlebenszeiten. Die Überprüfung auf einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten erfolgte durch den Log-Rank-Test.

Das Gesamtüberleben des Patientenkollektivs wurde mittels Kaplan -Meier-Schätzer dargestellt. Anschließend wurde der Einfluss des BRAF-Status auf das Gesamtüberleben durch den Log-rank-Test untersucht. Außerdem wurden die 5- und 10-Jahres-Überlebensraten sowie die mediane Überlebenszeit in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus der Patienten tabellarisch dargestellt. Mittels einer multivariaten Cox-Regression wurde der Einfluss mehrerer klinischer Variablen auf das Gesamtüberleben unseres Patientenkollektivs untersucht.

Die am häufigsten von Fernmetastasen betroffenen Organe wurden in einem Balkendiagramm dargestellt. Anschließend wurde für jedes dieser Organe ein Zusammenhang zwischen Organmetastasierung und BRAF-Mutation mittels Chi<sup>2</sup>-Test überprüft. Die Häufigkeiten der Organmetastasierungen wurden in gruppierten Balkendiagrammen nach BRAF-Mutationsstatus dargestellt. Außerdem wurde die Anzahl der von Fernmetastasen betroffenen Organe pro Patient, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus, dargestellt.

Für die von Gehirnetastasen betroffenen Patienten wurde mittels Kreuztabelle die Sterblichkeit zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten auf signifikante Unterschiede überprüft. Außerdem wurde das Überleben vom Zeitpunkt der diagnostizierten Gehirnetastasen mittels Kaplan-Meier-Schätzer für die Gruppen BRAF-mutiert mit BRAF-Inhibitor-Therapie, BRAF-mutiert ohne BRAF-Inhibitor-Therapie und BRAF-Wildtyp dargestellt und mittels Log-Rank-Test auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen geprüft.

Die Laborparameter S100 und LDH wurden zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung und zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung auf Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten untersucht. Dazu wurden die Laborparameter kategorisch in erhöht und normwertig eingeteilt und tabellarisch dargestellt. Die tatsächlich gemessenen Werte wurden mittels Median, Mittelwert und Spanne ebenfalls tabellarisch dargestellt und mittels Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten getestet. Zusätzlich wurden sie graphisch durch Boxplot-Diagramme dargestellt. Im nächsten Schritt wurden die Anzahl der von Fernmetastasen betroffenen Organe zum Zeitpunkt der S100-Abnahme bei Fernmetastasierung und die erhöhten bzw. normwertigen S100-Werte tabellarisch gegenübergestellt und mittels Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Zusätzlich wurden die Anzahl der von Fernmetastasen betroffenen Organe zum Zeitpunkt der S100-Abnahme bei Fernmetastasierung und die erhöhten bzw. normwertigen S100-Werte als gruppierte Balkendiagramm dargestellt.

Der Einfluss erhöhter oder normwertiger S100- und LDH-Werte auf das Gesamtüberleben wurde durch Kaplan-Meier-Schätzer dargestellt und mittels Log-Rank-Test auf signifikante Einflüsse der Laborparameter untersucht. Das untersuchte

Zeitintervall wurde als Zeitpunkt der Diagnose der Fernmetastasen bis zum Tod oder letzten Patientenkontakt festgelegt.

Für die Analyse der Lokalisation kutaner Melanome wurden die Häufigkeiten der ICD-Codes in einem gruppierten Balkendiagramm aufgeteilt nach dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten dargestellt. Außerdem wurde die Dicke des Primärtumors nach Breslow und die Invasionstiefe nach Clark auf Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten mittels Chi<sup>2</sup>-Test getestet.

Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  angenommen.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 DESKRIPTIVE DARSTELLUNG DES GESAMTEN PATIENTENKOLLEKTIVS

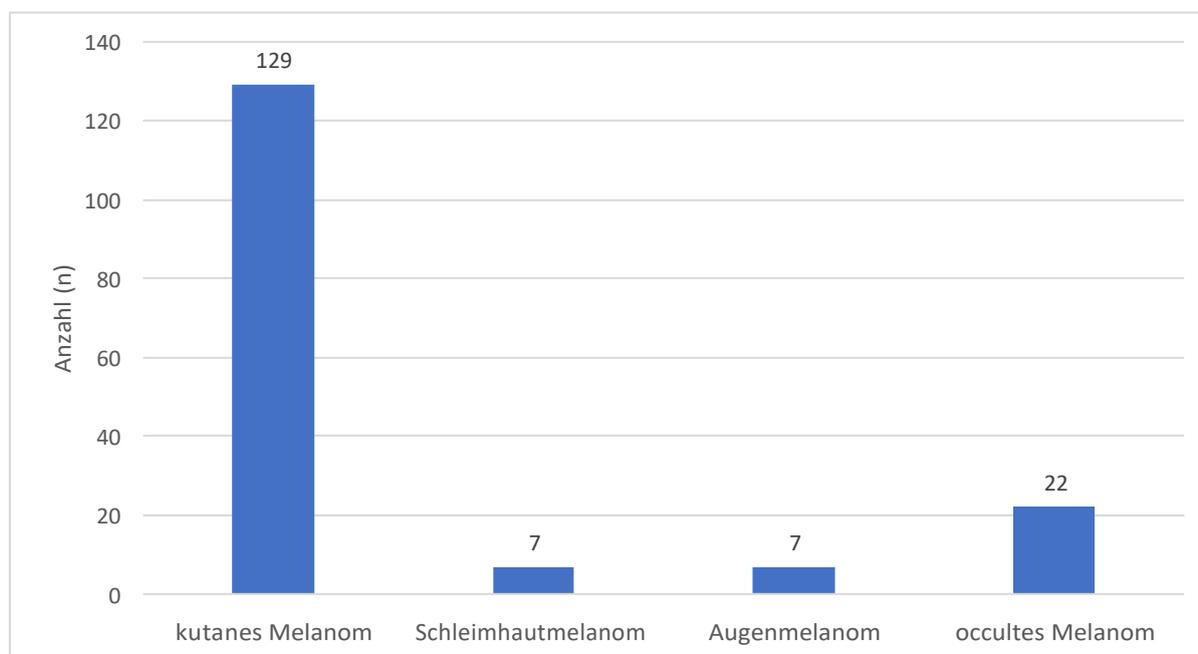
Nach Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien ergab sich ein Patientenkollektiv von 165 Patienten. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht einzelner Variablen des gesamten Patientenkollektivs

**Tabelle 5:** Darstellung klinischer Variablen des gesamten Patientenkollektivs

<b>Variable</b>	<b>Anzahl</b>	<b>(%)</b>
Anzahl	n= 165	
Geschlecht		
weiblich	n= 48	(29)
männlich	n= 117	(71)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]		
Mittelwert	60	
Minimum	22	
Maximum	85	
Median	63	
BRAF-Mutationsstatus		
mutiert	n= 69	(42)
Wildtyp	n= 96	(58)
Melanomart		
Kutanes Melanom	n= 129	(78)
Schleimhautmelanom	n= 7	(4)
Augenmelanom	n= 7	(4)
Occultes Melanom	n= 22	(13)
Tumorstadium nach AJCC bei Erstdiagnose		
I	n= 26	(17)
II	n= 59	(37)
III	n= 49	(31)
IV	n= 24	(15)
Tumordicke nach Breslow [Millimeter]		
T1 ≤ 1,00	n= 16	(10)
T2 1,01- 2,00	n= 34	(21)
T3 2,01- 4,00	n= 39	(23)
T4 ≥ 4,00	n= 36	(22)
Unbekannt	n= 40	(24)
Clark-Level		
1	n= 0	(0)
2	n= 13	(8)
3	n= 34	(21)

4	n= 47	(28)
5	n= 16	(10)
Unbekannt	n= 55	(33)
Überleben		
Verstorbene Patienten	n= 102	(62)
Lebende Patienten	n= 63	(38)

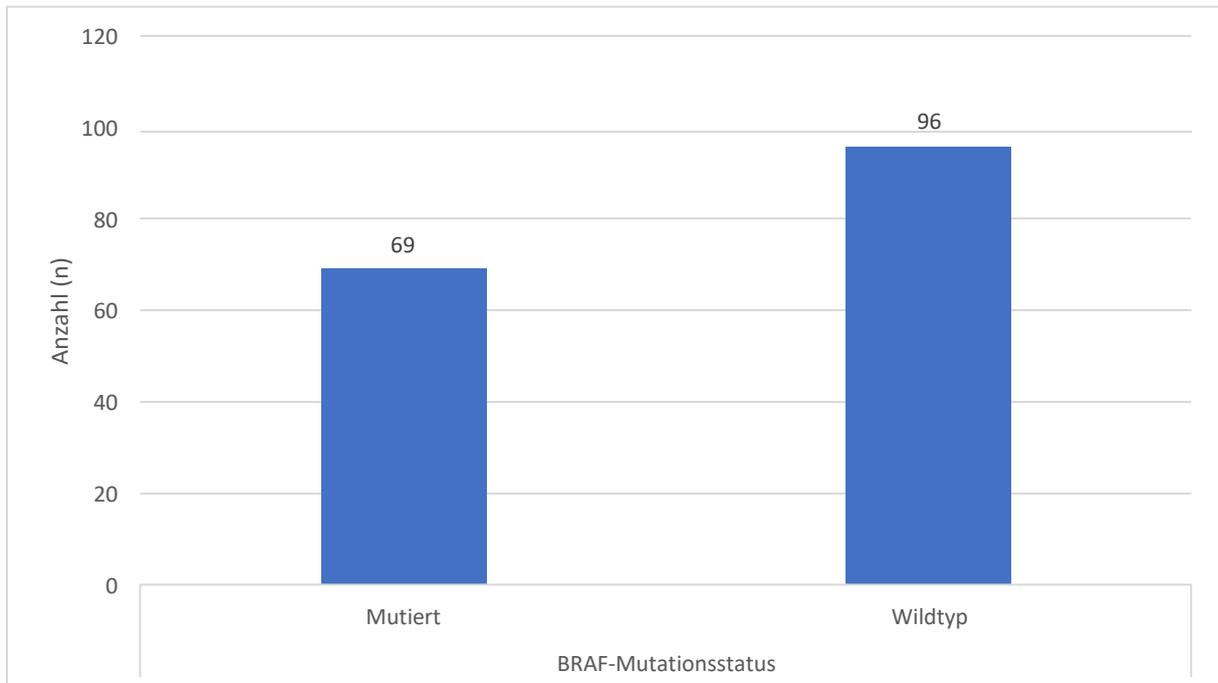
Wie aus Tabelle 5 hervorgeht waren 48 Patientinnen weiblich und 117 Patienten männlich. Das mittlere Alter bei Erstdiagnose lag bei 60 Jahren und die Tumordicke nach Breslow lag im Mittel bei 3,86 Millimetern. Das häufigste Tumorstadium nach AJCC bei Erstdiagnose war Stadium II. Insgesamt wurden bei 158 Patienten die Tumorstadien bei Erstdiagnose dokumentiert. Für Patienten mit Augenmelanomen (n=7) waren keine Tumorstadien bei Erstdiagnose bekannt. Insgesamt sind im Beobachtungszeitraum 102 Patienten verstorben.



**Abb. 13:** Balkendiagramm zur Darstellung der Häufigkeiten der Melanomarten im gesamten Patientenkollektiv

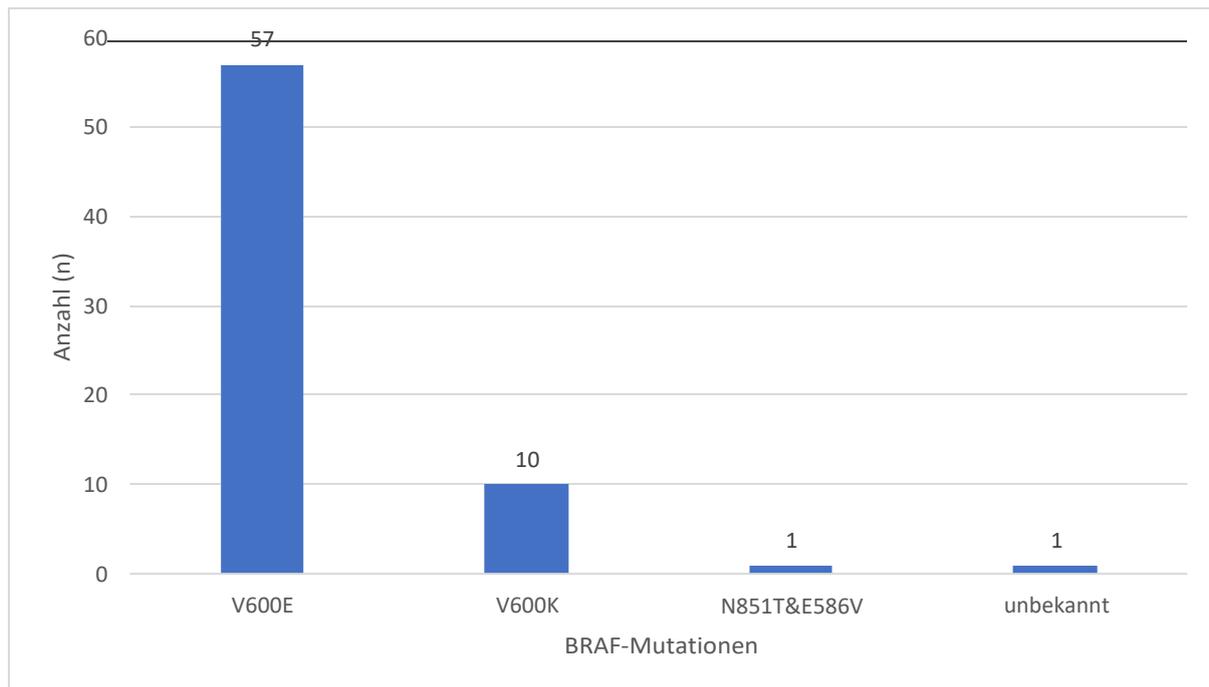
## 5.2 ERGEBNISSE DER BRAF-MUTATIONSANALYSE

Von den insgesamt 165 getesteten Patienten wiesen 69 Patienten eine Mutation des BRAF-Gens auf. Bei 96 Patienten wurde ein BRAF-Wildtyp festgestellt. Dies entspricht einer prozentualen Verteilung von 42 % für BRAF-mutierte Patienten und 58 % für BRAF-Wildtyp Patienten.



**Abb. 14:** Balkendiagramm zur Darstellung des Ergebnisses des BRAF-Mutationsstatus im gesamten Patientenkollektiv (n=165)

57 der 69 positiv getesteten Patienten wiesen eine V600E-Mutation auf. Bei 10 Patienten wurde eine V600K-Mutation nachgewiesen. Ein Patient exprimierte die seltenen Mutationen N851T und E586V. Außerdem konnte aufgrund mangelnder Daten bei einem Patienten keine genaue Aussage zur Lokalisation der BRAF-Mutation getätigt werden. Dies entspricht einer prozentualen Verteilung von 83 % für V600E-Mutationen, 15 % für V600K-Mutation, 1 % für N851T- und E586V-Mutationen und 1 % für die unbekannte Mutationsanalyse.



**Abb. 15:** Balkendiagramm zur Darstellung der verschiedenen BRAF-Mutationen unter den BRAF-positiv getesteten Patienten

### 5.3 DESKRIPTIVE DARSTELLUNG NACH BRAF-MUTATIONSSTATUS

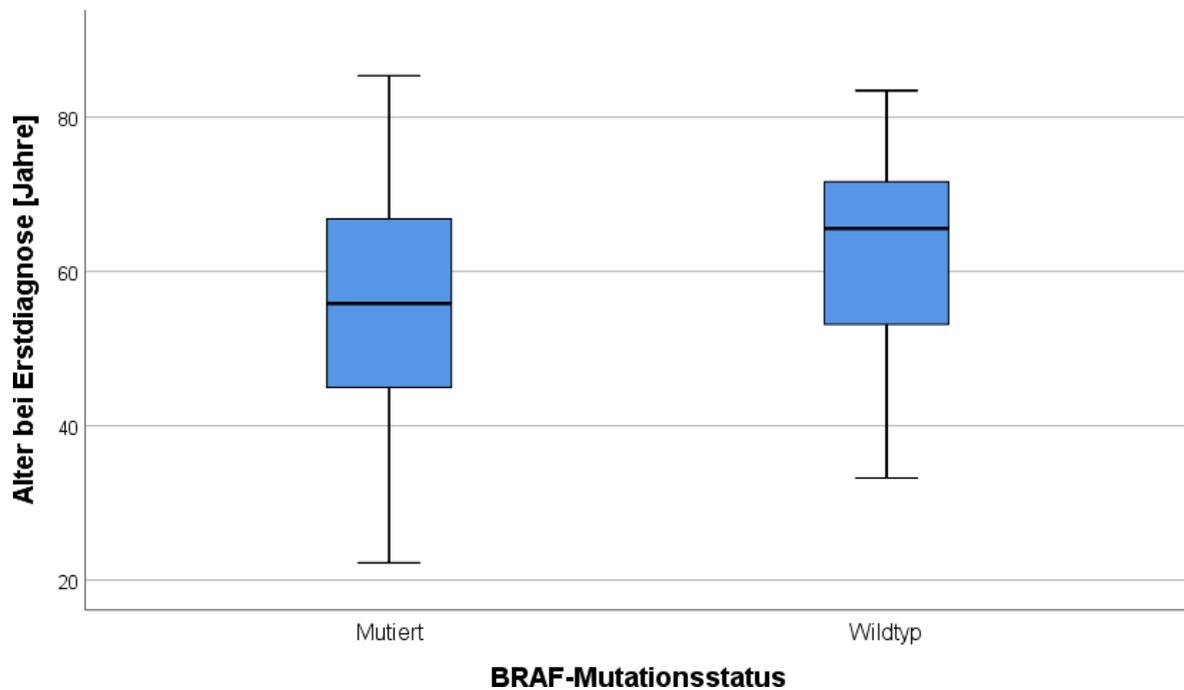
Teilte man das Patientenkollektiv nach seinem BRAF-Mutationsstatus auf, zeigte sich eine ähnliche Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen. Alle sieben Augenmelanome traten in der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten auf. Das häufigste Tumorstadium bei Erstdiagnose war in beiden Gruppen Stadium II. Tabelle 6 gibt eine Übersicht zur Darstellung der klinischen Parameter aus Kapitel 7.1 aufgeteilt nach dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten.

Auffällig war der Unterschied des medianen Alters bei Erstdiagnose zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. Es lag bei BRAF-mutierten Patienten bei 56 Jahren und bei BRAF-Wildtyp Patienten bei 66 Jahren. BRAF-mutierte Patienten waren im Mittel sieben Jahre jünger bei der Erstdiagnose des MM. Eine genauere Darstellung des Alters bei Erstdiagnose erfolgte durch die Anfertigung eines Boxplot-Diagramms. Außerdem wurde das Alter bei Erstdiagnose in Gruppen zusammengefasst und in einem gruppierten Balkendiagramm nach BRAF-Mutationsstatus dargestellt. Das in Abbildung 17 dargestellte gruppierte Balkendiagramm zeigt deutlich, dass vermehrt BRAF-Wildtyp Melanome in höheren Altersgruppen auftreten. Anschließend wurde durch den Mann-Whitney-U-Test der

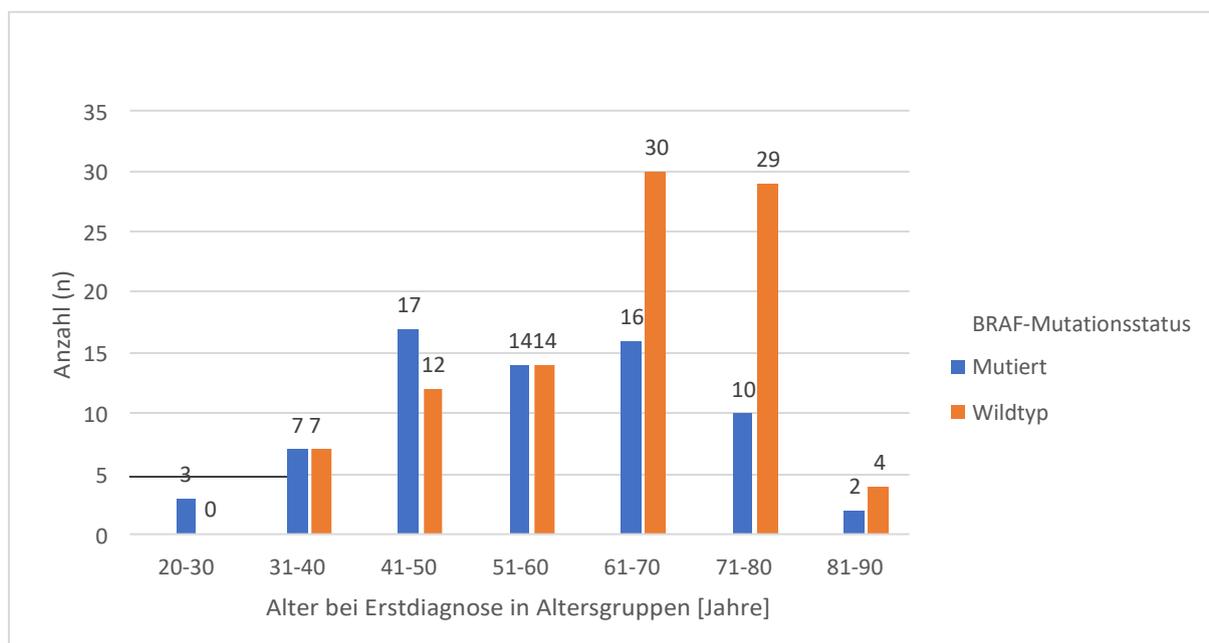
Altersunterschied bei Erstdiagnose auf Signifikanz geprüft. Das Ergebnis lag bei  $p= 0,002$ . Somit sind die BRAF-mutierten Patienten signifikant jünger bei Erstdiagnose als die BRAF-Wildtyp Patienten.

**Tabelle 6:** Darstellung des Patientenkollektivs aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus

	BRAF-Mutationsstatus	
	Mutiert (%)	Wildtyp (%)
Anzahl	n= 69	n=96
Geschlecht		
weiblich	n= 21	n= 27
männlich	n= 48	n= 69
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]		
Mittelwert	56	63
Minimum	22	33
Maximum	85	83
Median	56	66
Melanomart		
Kutanes Melanom	n= 59 (86)	n= 70 (73)
Schleimhautmelanom	n= 1 (1)	n= 6 (6)
Augenmelanom	n= 0 (0)	n= 7 (7)
Occultes Melanom	n= 9 (13)	n= 13 (14)
Stadium bei Erstdiagnose		
I	n= 11 (16)	n= 15 (17)
II	n= 25 (36)	n= 34 (38)
III	n= 22 (32)	n= 27 (30)
IV	n= 11 (16)	n= 13 (15)
Tumordicke nach Breslow [Millimeter]		
T1 ≤ 1,00	n= 7 (10)	n= 9 (9)
T2 1,01- 2,00	n= 16 (23)	n= 18 (19)
T3 2,01- 4,00	n= 17 (25)	n= 22 (23)
T4 ≥ 4,00	n= 17 (25)	n= 19 (20)
Unbekannt	n= 12 (17)	n= 28 (29)
Clark-Level		
1	n= 0 (0)	n= 0 (0)
2	n= 3 (5)	n= 10 (10)
3	n= 18 (26)	n= 16 (17)
4	n= 23 (33)	n= 24 (25)
5	n= 7 (10)	n= 9 (9)
Unbekannt	n= 18 (26)	n= 37 (39)
Überleben		
Verstorbene Patienten	44 (64)	58 (60)
Lebende Patienten	25 (36)	38 (40)



**Abb. 16:** Boxplot zur Darstellung des Alters bei Erstdiagnose aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test:  $p = 0,002$



**Abb. 17:** Gruppiertes Balkendiagramm zur Darstellung der Altersgruppen bei Erstdiagnose, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus

## 5.4 UNTERSUCHUNG DER METASTASIERUNGSZEITPUNKTE IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

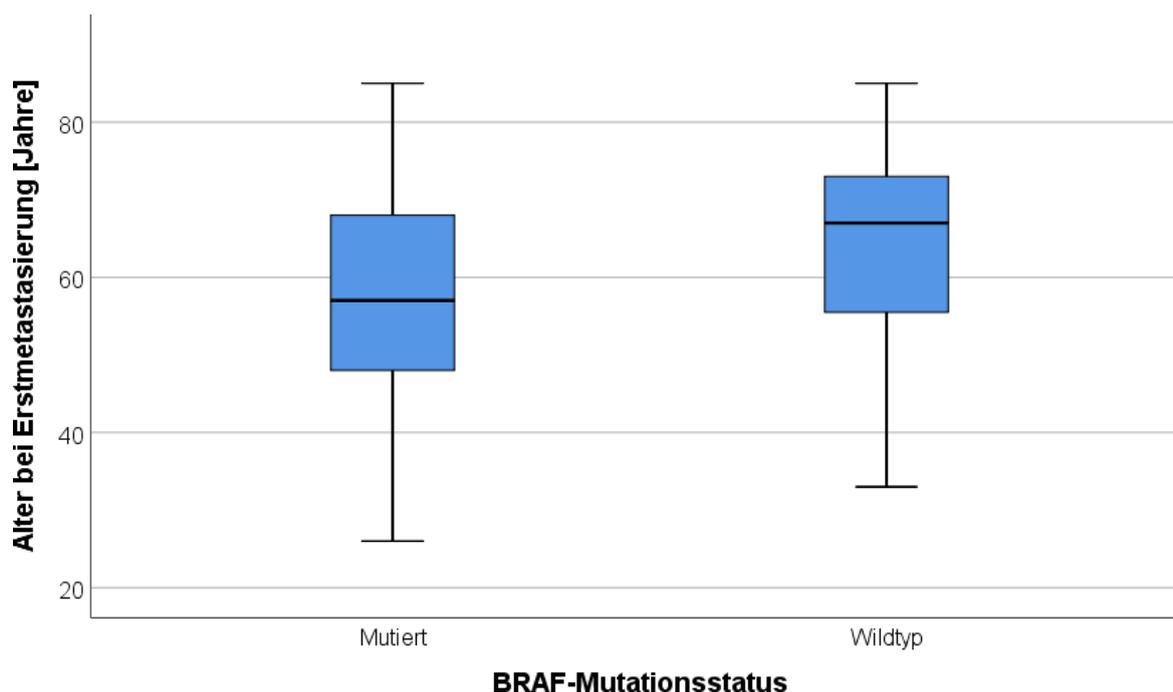
### 5.4.1 Analyse des Alters bei Erstmetastasierung (Stadium III und IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus

Bei dieser Untersuchung wurde das Alter bei Erstmetastasierung zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten verglichen. Dabei wurde nicht unterschieden, ob die Patienten bei Erstmetastasierung lokoregionäre Metastasen (Stadium III) oder Fernmetastasen (Stadium IV) aufwiesen. Tabelle 7 gibt eine Übersicht über die klinischen Daten des untersuchten Patientenkollektivs.

*Tab. 7: Darstellung des untersuchten Patientenkollektivs*

<b>Alter bei Erstmetastasierung [Jahre]</b>	<b>BRAF-mutiert n= 69</b>	<b>BRAF-Wildtyp n= 96</b>
Mittelwert	57,7	64,6
Minimum	26	33
Maximum	85	85
Median	57,0	67,0

Wie aus Tabelle 7 hervorgeht, liegt das mittlere Alter bei Erstmetastasierung für BRAF-Wildtyp Patienten 6,9 Jahre über dem der BRAF-mutierten Patienten. Der Median liegt sogar 10 Jahre über dem der BRAF-mutierten Patienten. Mittels Mann-Whitney-U-Test wurde das Alter bei Erstmetastasierung zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten auf signifikante Unterschiede geprüft. Es wurde gezeigt, dass BRAF-mutierte Patienten bei Erstmetastasierung signifikant jünger waren als BRAF-Wildtyp Patienten ( $p= 0,002$ ). Zur besseren Darstellung des Alters bei Erstmetastasierung für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten wurde ein Boxplot-Diagramm erstellt.



**Abb. 18:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung des Alters bei Erstmetastasierung (Stadium III und IV) in Jahren, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test  $p=0,002$

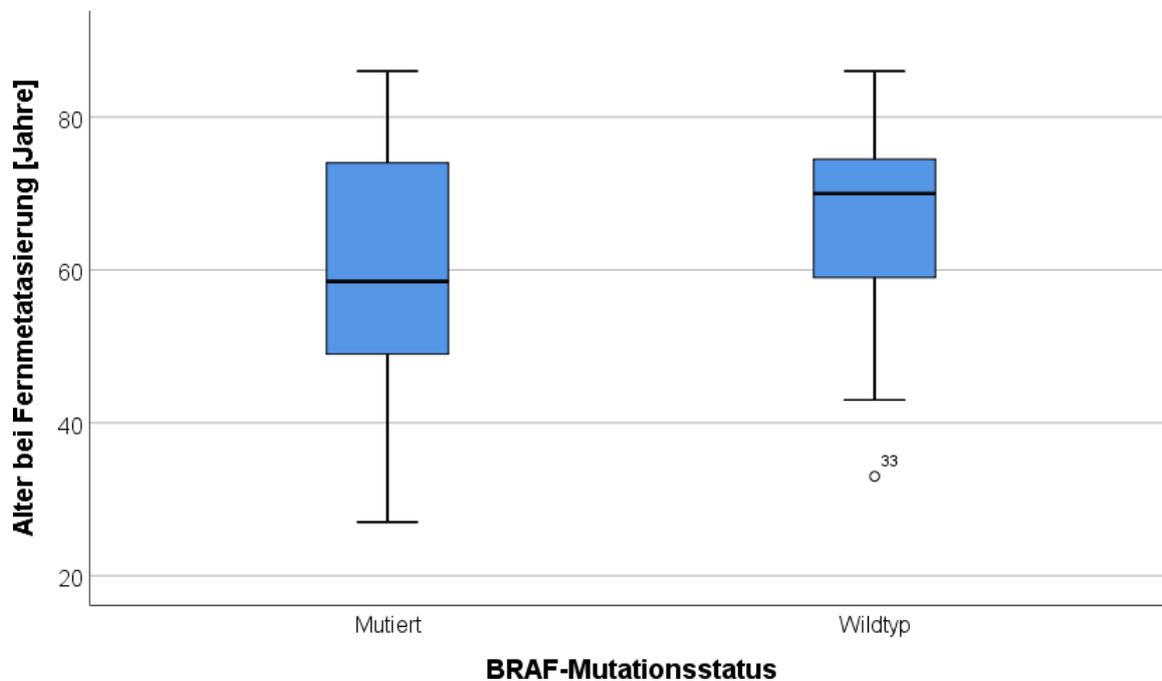
#### 5.4.2 Untersuchung des Alters bei Fernmetastasierung (Stadium IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus

Bei dieser Untersuchung wurde das Alter bei Fernmetastasierung zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten verglichen. Dabei wurde nicht unterschieden, ob die Patienten bereits bei Erstdiagnose Fernmetastasen (Stadium IV) aufwiesen oder erst im Verlauf der Krankheit Fernmetastasen entwickelten.

**Tab. 8:** Darstellung des untersuchten Patientenkollektivs  $n=134$ ; Mann-Whitney-U-Test  $p=0,003$

Alter bei Fernmetastasierung [Jahre]	BRAF-mutiert n= 58	BRAF-Wildtyp n= 76
Mittelwert	59	67
Minimum	27	33
Maximum	86	86
Median	58,5	70,0

Mittels Mann-Whitney-U-Test wurde der Altersunterschied bei Fernmetastasierung zwischen den Gruppen auf Signifikanz getestet. Das Ergebnis  $p=0,003$  liefert einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. BRAF-mutierte Patienten sind signifikant jünger zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) als BRAF-Wildtyp Patienten.



**Abb. 19:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung des Alters bei Fernmetastasierung in Jahren, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test:  $p=0,003$ ; Ausreißer durch Alter in Jahren angegeben

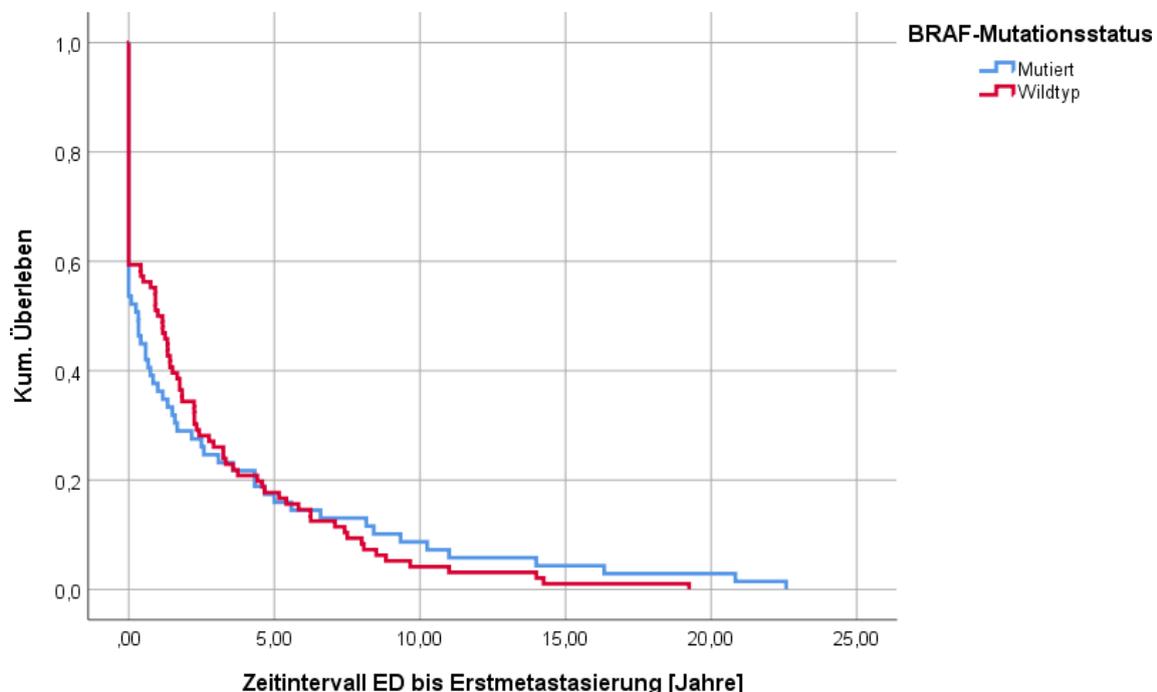
## 5.5 ANALYSE VERSCHIEDENER METASTASIERUNGSZEITRÄUME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

### 5.5.1 Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis Erstmetastasierung

Untersucht wurden hierbei alle 165 Patienten, die Metastasen entwickelt haben und auf eine BRAF-Mutation getestet wurden. Es wurde nicht unterschieden, ob die Patienten bei Erstmetastasierung Fern- oder lokoregionäre Metastasen entwickelten. Patienten, die schon bei der Erstdiagnose des MM Metastasen aufwiesen gingen auch in diese Analyse mit ein.

Für das Zeitintervall von der Erstdiagnose bis zur Erstmetastasierung lag das mediane Überleben bei BRAF-mutierten Patienten bei 0,3 Jahren und für BRAF-Wildtyp bei einem Jahr.

Die Prüfung auf einen signifikanten Unterschied zwischen den Zeiträumen von der Erstdiagnose bis zur Erstmetastasierung BRAF-mutierter und BRAF-Wildtyp Patienten wurde mittels Log-Rank-Test durchgeführt. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,896$ ).



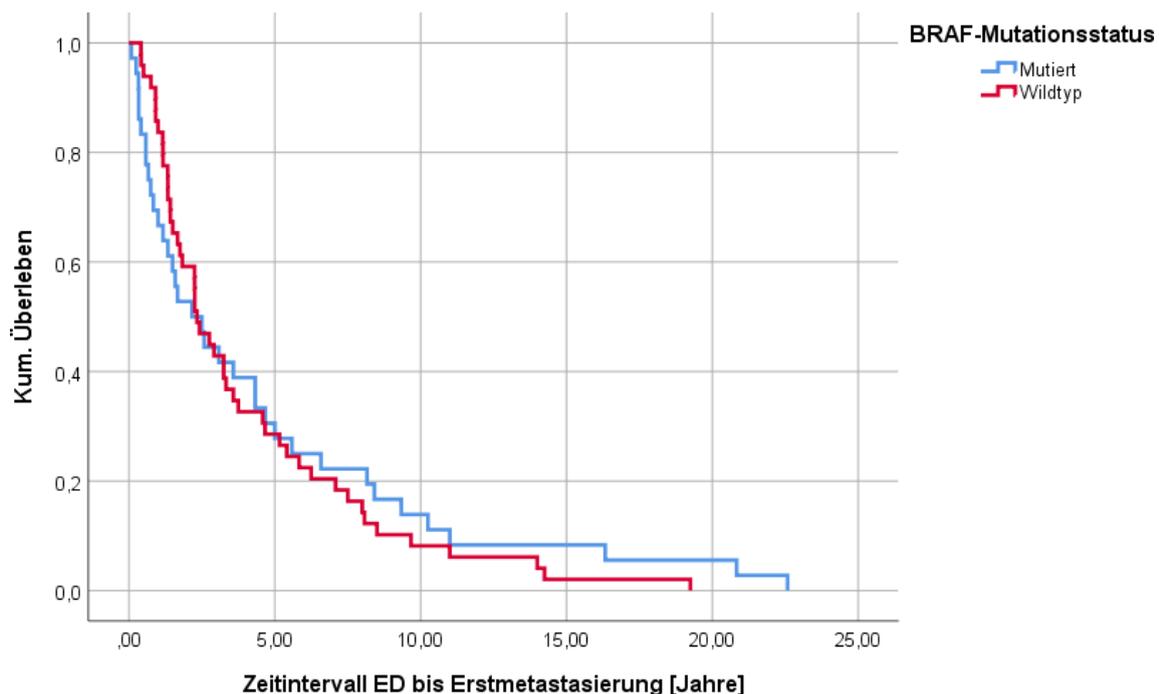
**Abb. 20:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose (ED) und Erstmetastasierung aufgeteilt nach BRAF-Status; Log-Rank-Test  $p=0,896$

### 5.5.2 Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose

Bei dieser Untersuchung wurden die Patienten eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein nicht-metastasiertes Tumorstadium aufwiesen (BRAF-mutiert n= 36; BRAF-Wildtyp n= 49). Es wurde nicht unterschieden, ob die Patienten bei Erstmetastasierung lokoregionäre Metastasen (Stadium III) oder Fernmetastasen (Stadium IV) entwickelten. Dieses Zeitintervall entspricht dem progressionsfreien Überleben für die Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose.

Das mediane Überleben für das untersuchte Zeitintervall lag für BRAF-mutierte Patienten bei 2,2 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 2,3 Jahren.

Eine Signifikanzprüfung mittels Log-Rank-Test auf einen Unterschied der Zeitintervalle zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wurde durchgeführt. Es lag kein signifikanter Unterschied vor ( $p= 0,674$ ).



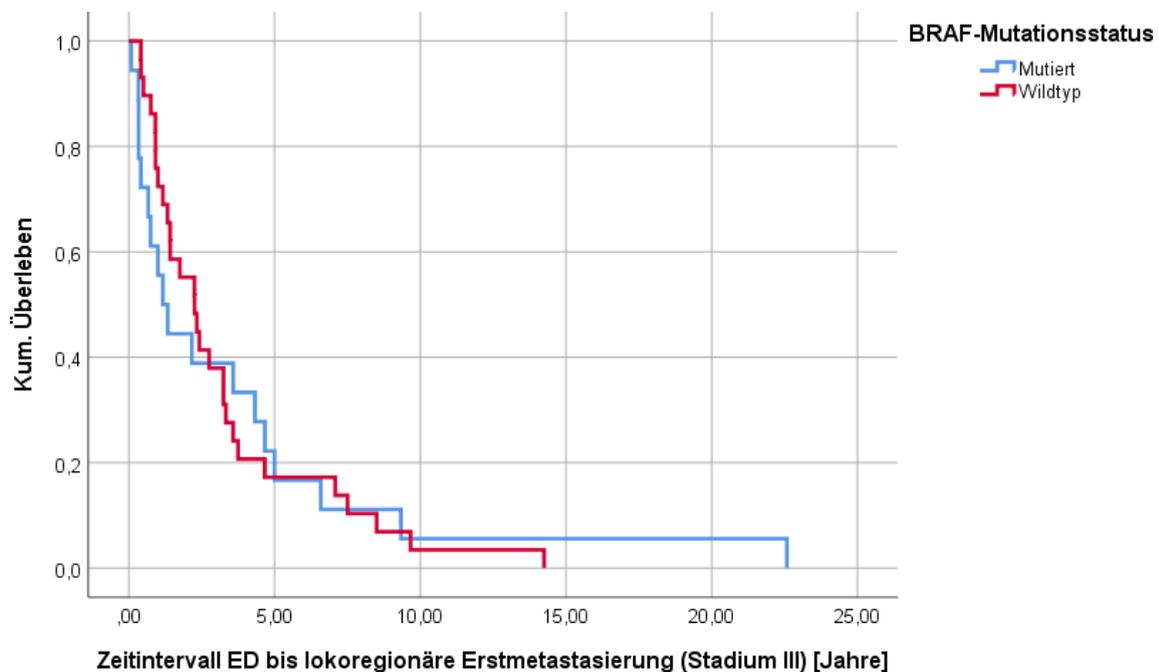
**Abb. 21:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose (ED) und Erstmetastasierung (Stadium III und IV) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose, aufgeteilt nach BRAF-Status; Log-Rank-Test  $p= 0,674$

### 5.5.3 Untersuchung des Zeitintervalls Erstdiagnose bis lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose

Bei dieser Untersuchung wurden die Patienten eingeschlossen, die bei Erstdiagnose ein nicht-metastasiertes Tumorstadium aufwiesen und im Verlauf zunächst lokoregionäre Metastasen (Stadium III) entwickelten (BRAF-mutiert n= 18; BRAF-Wildtyp n= 29). Aufgetretene Fernmetastasen wurden bei dieser Analyse nicht berücksichtigt.

Das mediane Überleben des untersuchten Zeitintervalls lag für BRAF-mutierte Patienten bei 1,2 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 2,3 Jahren.

Eine Signifikanzprüfung mittels Log-Rank-Test auf einen Unterschied der Zeitintervalle zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wurde durchgeführt. Es lag kein signifikanter Unterschied vor ( $p= 0,940$ ).



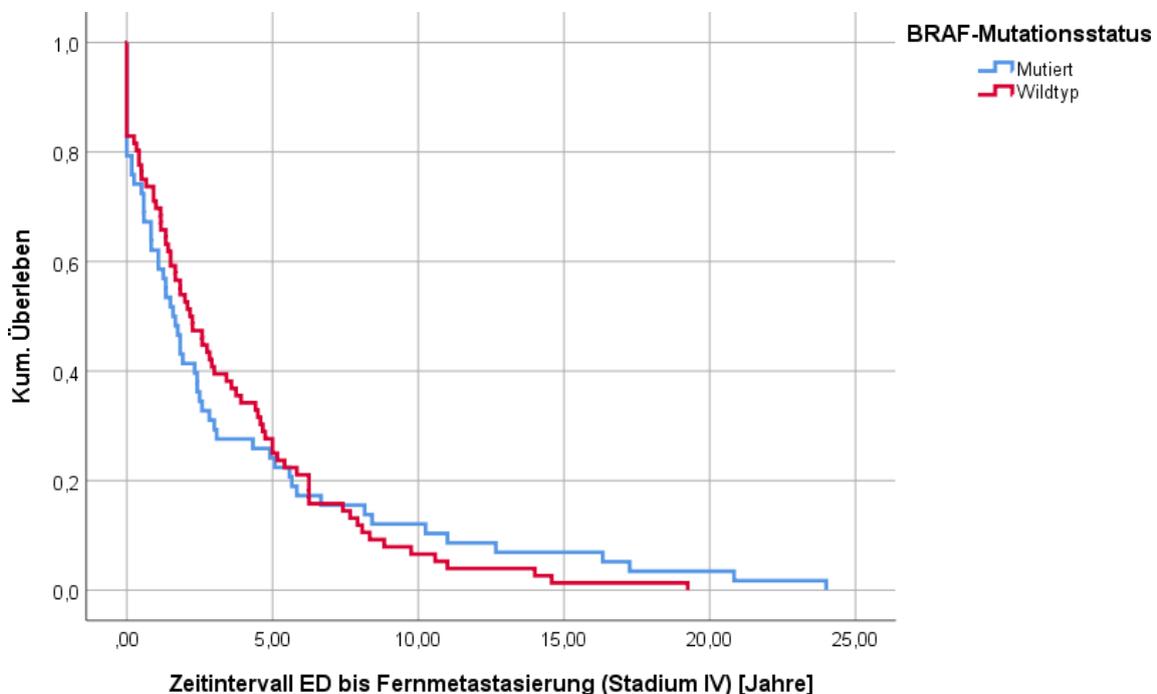
**Abb. 22:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose (ED) und lokoregionärer Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose, aufgeteilt nach BRAF-Status; Log-Rank-Test  $p= 0,940$

#### 5.5.4 Untersuchung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose und Fernmetastasierung (Stadium IV)

Bei dieser Untersuchung wurden die Patienten eingeschlossen, die im Krankheitsverlauf Fernmetastasen (Stadium IV) entwickelten (BRAF-mutiert n= 58; BRAF-Wildtyp n= 76).

Die mediane Überleben szeit für BRAF-mutierte Patienten betrug 1,6 Jahre und für BRAF-Wildtyp Patienten 2,2 Jahre.

Eine Signifikanzprüfung mittels Log-Rank-Test auf einen Unterschied der Zeitintervalle zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wurde durchgeführt. Es lag kein signifikanter Unterschied vor ( $p= 0,949$ ).

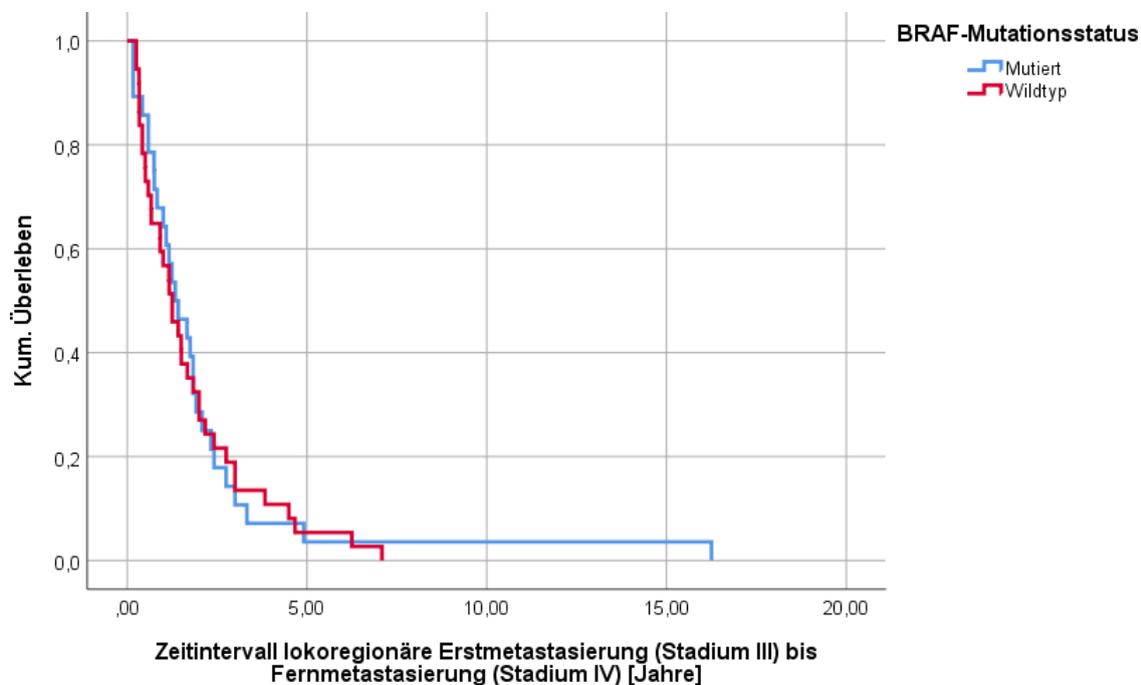


**Abb 23:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls zwischen Erstdiagnose (ED) bis zur ersten Fernmetastasierung (Stadium IV), aufgeteilt nach BRAF-Status; Log-Rank-Test  $p= 0,949$

### 5.5.5 Untersuchung des Zeitintervalls zwischen lokoregionärer Erstmetastasierung (Stadium III) und Fernmetastasierung (Stadium IV)

Bei dieser Untersuchung wurden die Patienten eingeschlossen, die zuerst lokoregionäre Metastasen (Stadium III) entwickelten und im weiteren Krankheitsverlauf Fernmetastasen (Stadium IV) aufwiesen (BRAF-mutiert n= 28; BRAF-Wildtyp n= 37). Die mediane Überlebenszeit für das Zeitintervall von der lokoregionären Erstmetastasierung bis zur Fernmetastasierung betrug sowohl für BRAF-mutierte, als auch für BRAF-Wildtyp Patienten 1,3 Jahre.

Eine Signifikanzprüfung mittels Log-Rank-Test auf einen Unterschied der Zeitintervalle zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wurde durchgeführt. Es lag kein signifikanter Unterschied vor ( $p= 0,864$ ).



**Abb. 24:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls zwischen lokoregionärer Erstmetastasierung (Stadium III) und Fernmetastasierung (Stadium IV) aufgeteilt nach BRAF-Status; Log-Rank-Test  $p= 0,864$

## 5.6 GESAMTÜBERLEBEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

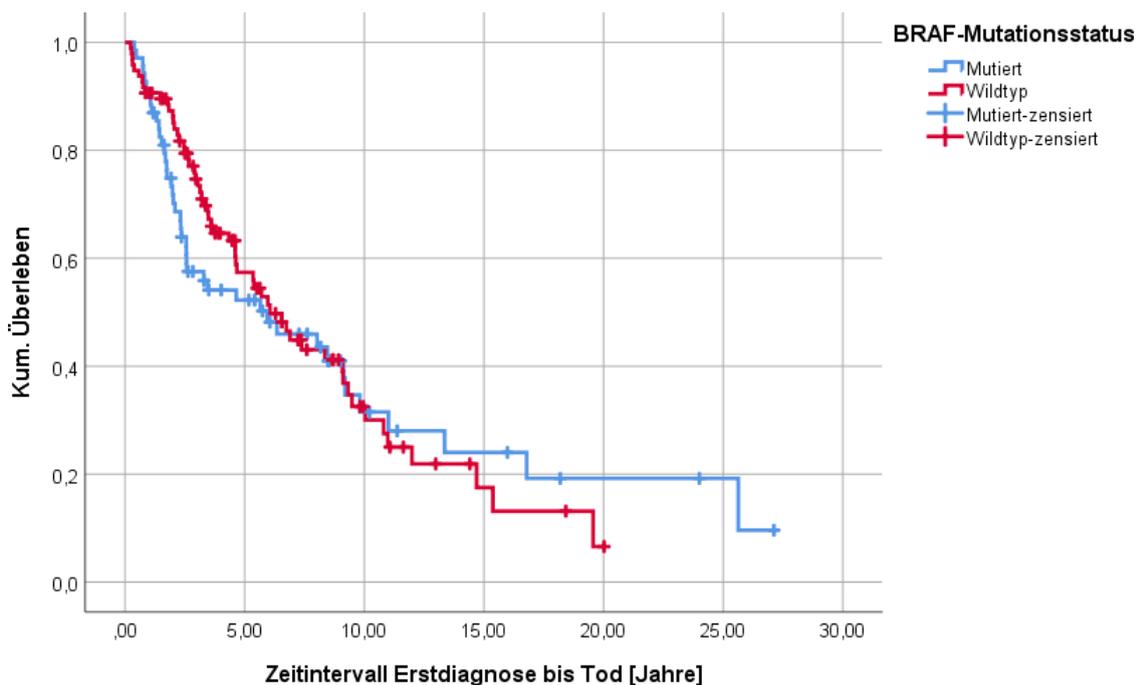
**Tab. 9:** Darstellung der Anzahl der Todesfälle, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus

<b>BRAF-Mutationsstatus</b>	<b>Gesamtzahl</b>	<b>Anzahl der Todesfälle</b>	<b>Prozentualer Anteil [%]</b>
Mutiert	69	43	62,3
Wildtyp	96	57	59,4
Gesamt	165	100	60,6

Das Gesamtüberleben in beiden Gruppen wurde mittels Kaplan-Meier-Schätzer grafisch dargestellt. Das mediane Gesamtüberleben betrug in beiden Gruppen sechs Jahre. Die Signifikanzanalyse mittels Log-rank-Test ergab keinen signifikanten Unterschied im Hinblick auf den Einfluss des BRAF-Mutationsstatus auf das Gesamtüberleben ( $p=0,753$ ).

**Tab. 10:** Darstellung des medianen Gesamtüberlebens sowie der 5- und 10-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus

	<b>BRAF-mutiert</b>	<b>BRAF-Wildtyp</b>
<b>Medianes Gesamtüberleben [Jahre]</b>	6	6
<b>5-Jahres-Überlebensrate [%]</b>	52,5	57,5
<b>10-Jahres-Überlebensrate [%]</b>	31,5	32,5



**Abb. 25:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Gesamtüberlebens aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Log-rank-Test  $p=0,753$

Im nächsten Schritt wurde mittels einer multivariaten Cox-Regression der Einfluss mehrerer klinischer Variablen auf das Gesamtüberleben unseres Patientenkollektivs untersucht. Die Variablen Alter bei Erstdiagnose, Geschlecht, Tumordicke nach Breslow und Invasionstiefe nach Clark wurden ausgewählt, da sie in anderen veröffentlichten Arbeiten als signifikante Einflussgrößen auf das Gesamtüberleben bei Melanompatienten beschrieben wurden. Die in erhöht und normwertig eingeteilten Variablen S100- und LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung wiesen in Kapitel 7.8.3 in einer univariaten Untersuchung mittels Log-Rank-Test einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben auf und gingen deshalb in die Untersuchung mitein.

Lediglich das Alter bei Erstdiagnose und die Tumordicke nach Breslow gingen in unserer Analyse als signifikante Einflussgrößen auf das Gesamtüberleben unserer Patientenkohorte hervor. Es konnte gezeigt werden, dass dickere Primärtumoren (HR 1,072) und höheres Alter bei Erstdiagnose (HR 1,024) mit einem schlechteren Gesamtüberleben einhergingen.

**Tab. 11:** Multivariate Cox-Regression zur Veranschaulichung des Einflusses klinischer Variablen auf das Gesamtüberleben

Variable	Signifikanz	Hazard-Ratio (HR)	95%-Konfidenzintervall für HR
Geschlecht	0,641	1,168	0,608- 2,244
Alter bei ED [Jahre]	<b>0,041</b>	<b>1,024</b>	1,001- 1,048
Tumordicke nach Breslow [mm]	<b>0,006</b>	<b>1,072</b>	1,020- 1,126
Invasionstiefe nach Clark	0,349	1,193	0,825- 1,724
S100-Wert erhöht/normwertig bei Fernmetastasierung	0,659	1,147	0,623- 2,112
LDH-Wert erhöht/normwertig bei Fernmetastasierung	0,697	1,126	0,620- 2,042

## 5.7 ANALYSE AUFGETRETER FERNMETASTASEN (STADIUM IV) IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

Für einen der 96 BRAF-Wildtyp Patienten waren keine Angaben zur Fernmetastasierung (Stadium IV) vorhanden. Dieser Patient wurde von dieser Analyse ausgeschlossen.

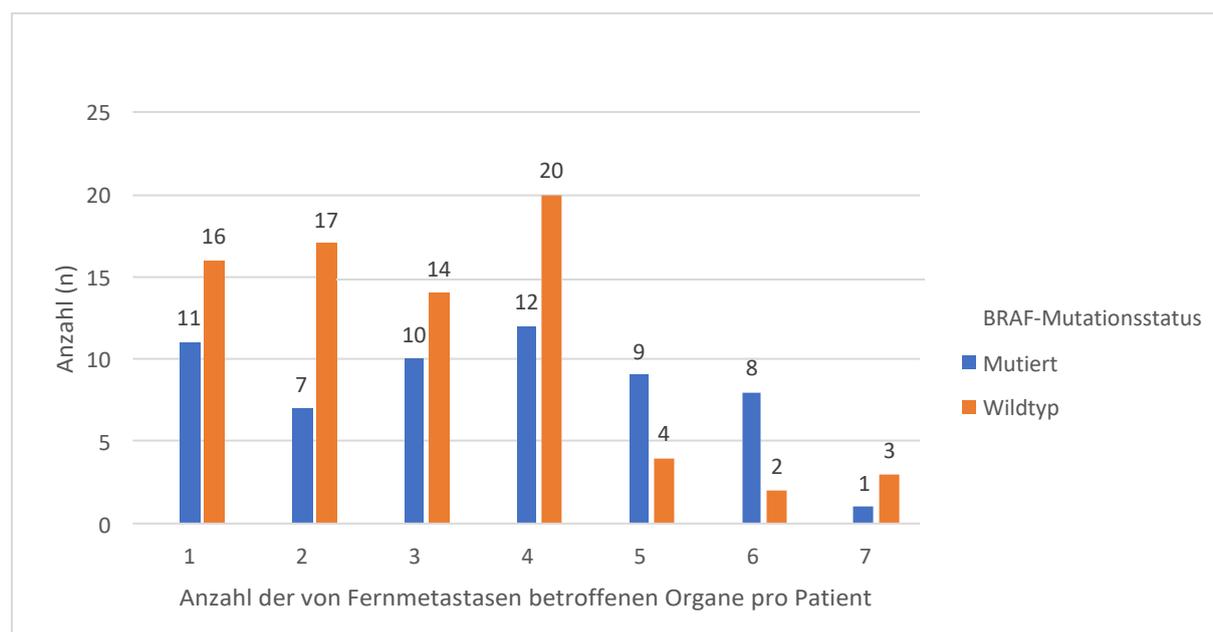
Insgesamt traten bei 82 % der Patienten im Krankheitsverlauf Fernmetastasen auf. Tabelle 12 gibt eine Übersicht über die Häufigkeiten für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied für das Auftreten von Fernmetastasen zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. Der durchgeführte Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson ergab einen p-Wert von p= 0,507. Für die

folgenden Analysen wurden nur die 134 Patienten mit aufgetretenen Fernmetastasen beachtet.

**Tab 12:** Darstellung der Häufigkeit aufgetretener Fernmetastasen; Prozentangaben in Klammern; Chi<sup>2</sup>-Test  $p=0,507$

BRAF-Status	Fernmetastasen aufgetreten (%)	Keine Fernmetastasen (%)	Gesamt (%)
Mutiert	58 (84)	11 (16)	69 (100)
Wildtyp	76 (80)	19 (20)	95 (100)
Gesamt	134 (82)	30 (18)	164 (100)

Als nächstes wurde untersucht, ob BRAF-mutierte Patienten im Gegensatz zu BRAF-Wildtyp Patienten eine erhöhte Tumorlast im fernmetastasierten Stadium aufweisen. Dazu wurde die Anzahl der von Fernmetastasen betroffenen Organe pro Patient verglichen und in einem gruppierten Balkendiagramm dargestellt.

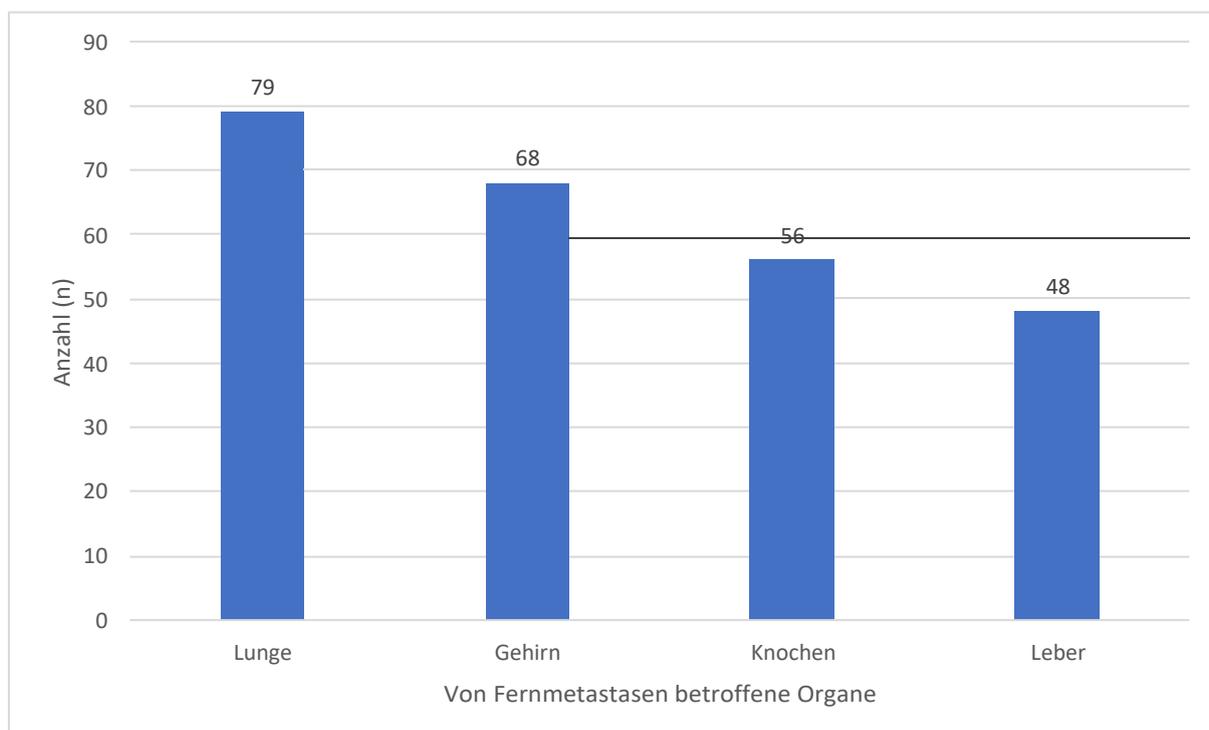


**Abb. 26:** Gruppiertes Balkendiagramm zur Darstellung der von Fernmetastasen (Stadium IV) betroffenen Organe pro Patient, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Chi<sup>2</sup>-Test  $p=0,06$

Abbildung 26 zeigt für BRAF-Wildtyp Patienten eine höhere Anzahl an Patienten, bei denen drei oder weniger Organe von Fernmetastasen betroffen sind. In der BRAF-

mutierten Gruppe hingegen gibt es mehr Patienten, die vier oder mehr von Fernmetastasen betroffene Organe aufweisen. Der durchgeführte Chi<sup>2</sup>-Test ergab einen p-Wert von 0,06 und somit keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten.

Als nächstes wurden die am häufigsten von Fernmetastasen betroffenen Organe betrachtet. Am häufigsten von Fernmetastasen betroffen waren Lunge (n= 79), Gehirn (n= 68), Knochen (n= 56) und Leber (n= 48).

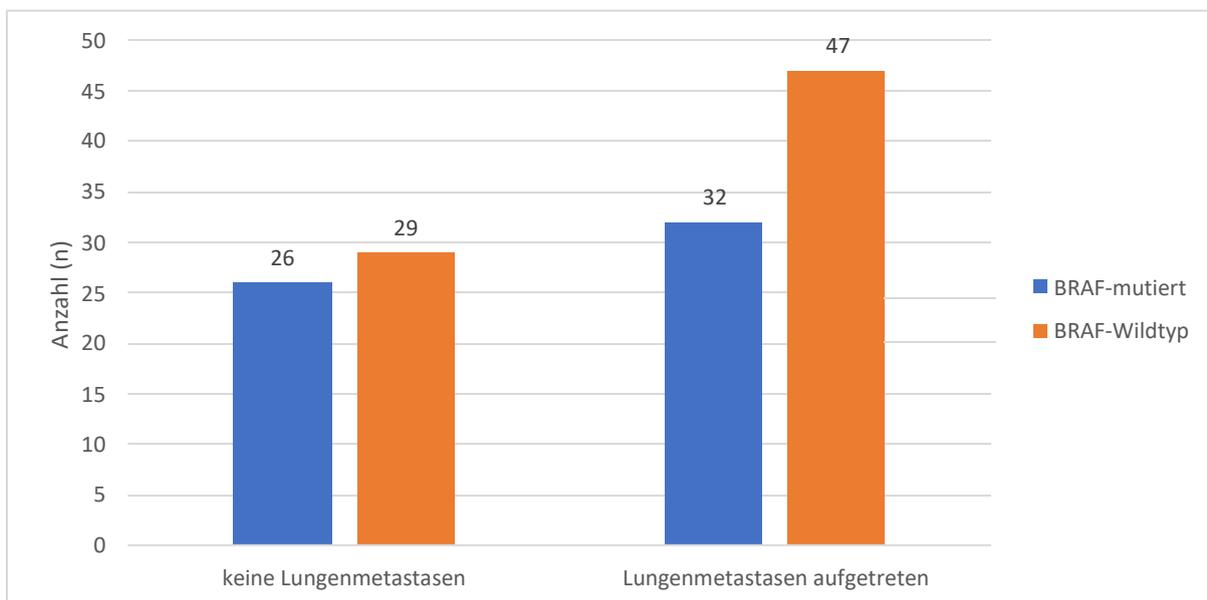


**Abb. 27:** Einfaches Balkendiagramm zur Darstellung der am häufigsten von Fernmetastasen (Stadium IV) betroffenen Organe

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob sich ein Unterschied für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten für betroffene Organe bei Fernmetastasierung nachweisen lässt. Im Folgenden werden die Ergebnisse für die einzelnen Organe mittels gruppierten Balkendiagrammen dargestellt und durch den Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson auf signifikante Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten untersucht.

### 5.7.1 Lungenmetastasen

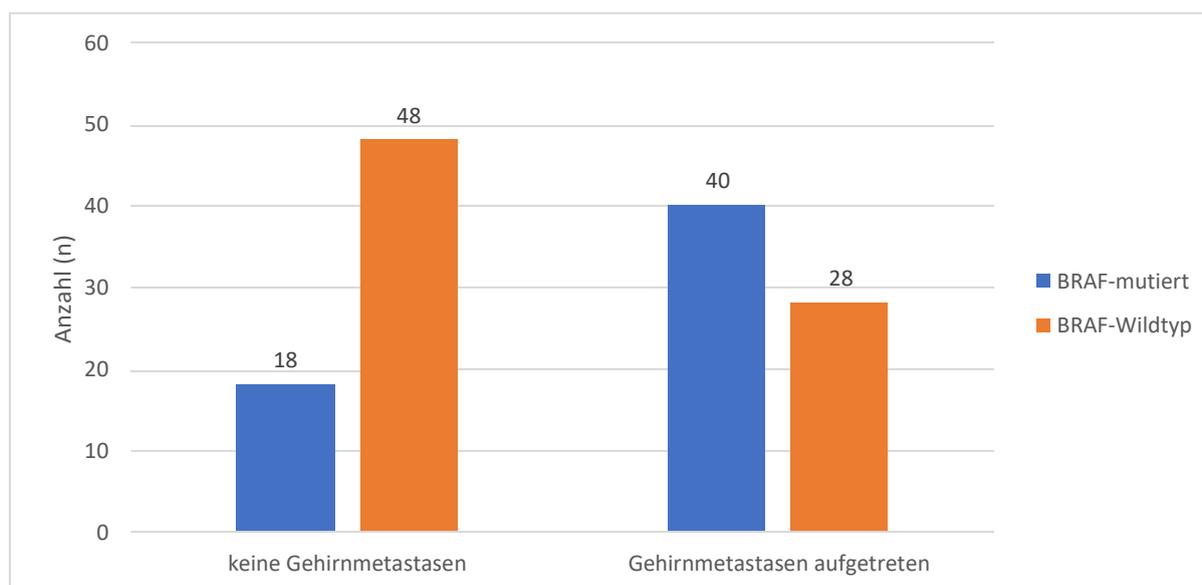
Insgesamt wiesen 79 der 134 von Fernmetastasen betroffenen Patienten Lungenmetastasen auf. Ein signifikanter Unterschied in der Verteilung der aufgetretenen Lungenmetastasen zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten ließ sich mittels Chi<sup>2</sup>-Test nicht nachweisen ( $p=0,437$ ). Abbildung 28 zeigt die Verteilung der aufgetretenen Lungenmetastasen.



**Abb. 28:** Gruppierendes Balkendiagramm zur Darstellung der Verteilung von Lungenmetastasen, unterteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Chi<sup>2</sup>-Test  $p=0,437$

### 5.7.2 Gehirnetastasen

In der Gruppe der BRAF-mutierten Patienten mit Fernmetastasen entwickelten 40 Patienten Gehirnetastasen. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es hingegen 28 Patienten. Durch das Ergebnis des Chi<sup>2</sup>-Tests  $p=0,000228$  konnte gezeigt werden, dass BRAF-mutierte Patienten signifikant häufiger Gehirnetastasen entwickelten als BRAF-Wildtyp Patienten.



**Abb. 29:** Gruppieretes Balkendiagramm zur Darstellung der Verteilung von Gehirnetastasen, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus;  $\chi^2$ -Test  $p=0,000228$

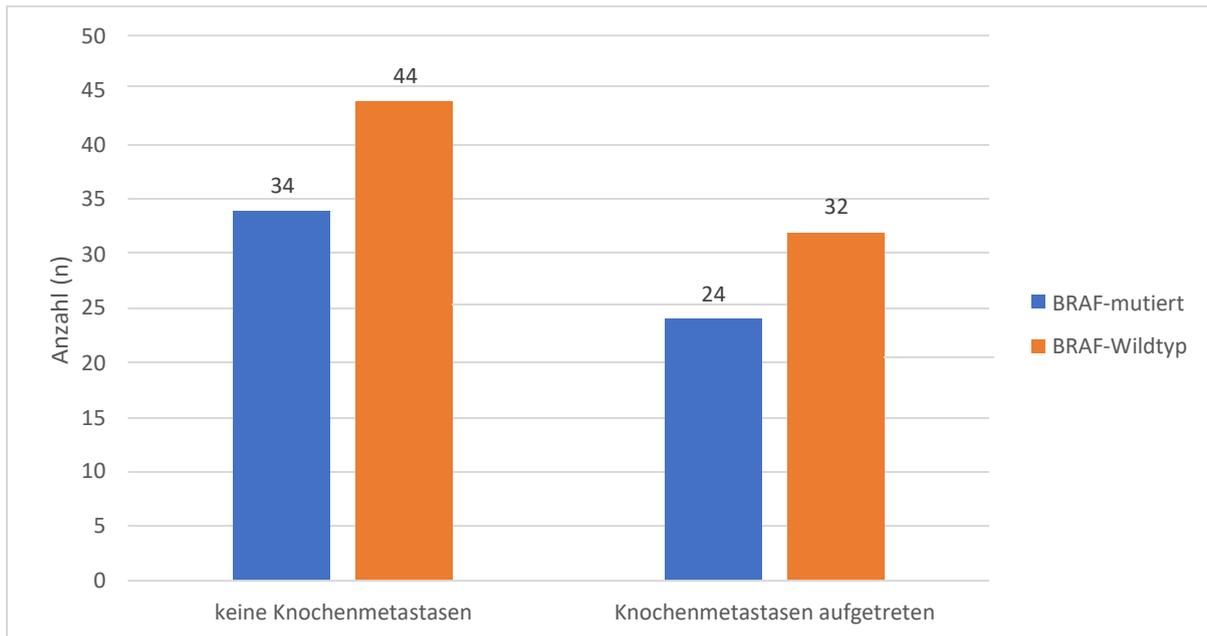
Durch die signifikanten Ergebnisse der Häufigkeiten von Gehirnetastasen wurde im nächsten Schritt die Sterblichkeit in dieser Patientenkohorte im Hinblick auf den BRAF-Mutationsstatus untersucht. Die nachfolgende Kreuztabelle gibt einen Überblick über die Sterblichkeit der Patienten, bei denen Gehirnetastasen aufgetreten sind. Der Signifikanztest mittels exaktem Test nach Fischer lieferte ein Ergebnis von  $p=0,289$ . Das Auftreten von Todesfällen bei Patienten mit Gehirnetastasen unterscheidet sich somit nicht signifikant nach dem BRAF-Mutationsstatus.

**Tab. 13:** Kreuztabelle zur Darstellung der Todesfälle bei Patienten mit Gehirnetastasen, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Exakter Test nach Fischer:  $p=0,289$

		BRAF-mutiert	BRAF-Wildtyp	Gesamt
Patient verstorben	nein	7	2	9
	ja	33	26	59
Gesamt		40	28	68

Mittels eines Kaplan-Meier-Schätzers wurde das Zeitintervall von der Gehirnetastasierung bis zum Tod der Patienten untersucht. Dabei wurden BRAF-mutierte Patienten, die während ihrer Therapie einen BRAF-Inhibitor erhielten ( $n=34$ ), BRAF-mutierte Patienten, die keinen BRAF-Inhibitor erhielten ( $n=6$ ) und BRAF-

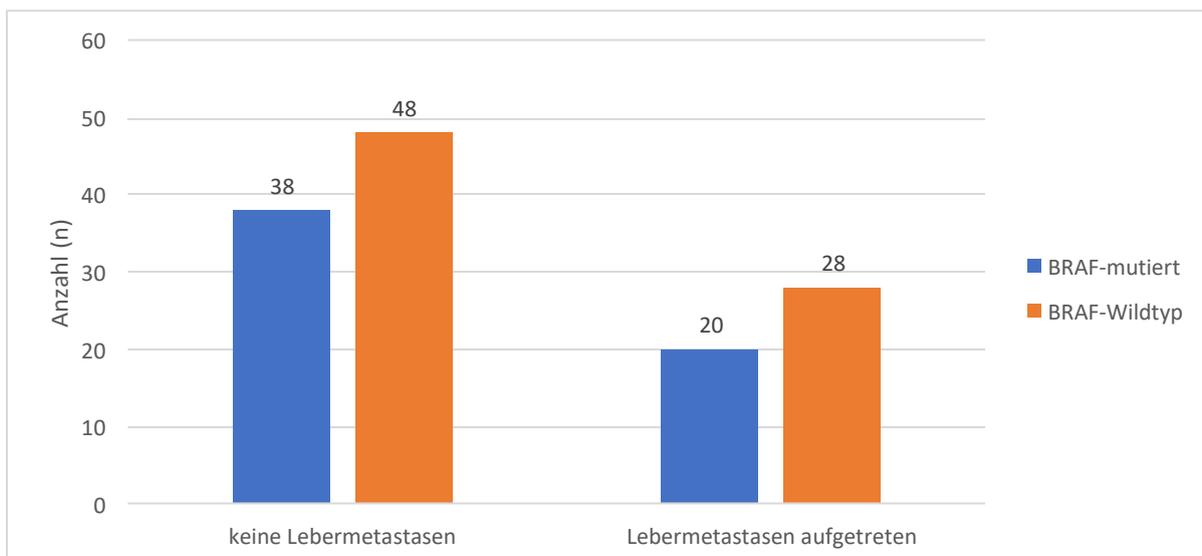




**Abb. 31:** Gruppierendes Balkendiagramm zur Darstellung der Verteilung von Knochenmetastasen, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus;  $\chi^2$ -Test  $p=0,933$

#### 5.7.4 Lebermetastasen

Insgesamt wiesen 48 der 134 von Fernmetastasen betroffenen Patienten Lebermetastasen auf. Es waren 20 BRAF-mutierte Patienten und 28 BRAF-Wildtyp Patienten von Lebermetastasen betroffen. Der durchgeführte  $\chi^2$ -Test ( $p=0,778$ ) zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Lebermetastasen nach BRAF-Mutationsstatus der Patienten.



**Abb. 32:** Gruppierendes Balkendiagramm zur Darstellung der Verteilung von Lebermetastasen, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus;  $\chi^2$ -Test  $p=0,778$

## 5.8 ANALYSE DER LABORPARAMETER S100 UND LDH IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

Die nachfolgenden Analysen stellen die Laborparameter S100 und LDH zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III) und zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) dar. Der Cut-off-Wert für normwertige S100-Werte lag bei 0,105 µg/L. Der Cut-Off-Wert für normwertige LDH-Werte lag bei 4,13 µmol/L\*s.

### 5.8.1 Analyse der Laborparameter S100 und LDH zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus

Für insgesamt 90 Patienten konnten S100-Werte bei lokoregionärer Erstmetastasierung (Stadium III) ermittelt werden. Werte für die LDH wurden bei 89 Patienten zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung erfasst.

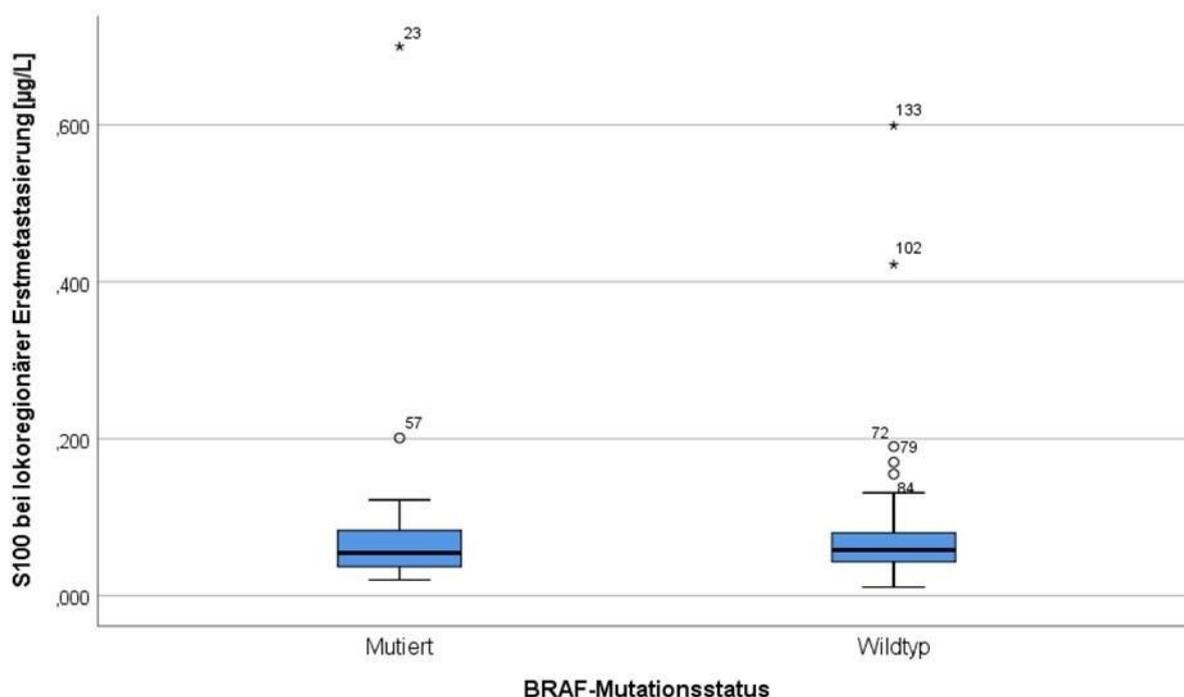
**Tab. 14:** Darstellung der Laborwerte S100 und LDH zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III), aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; p-Werte mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt

Laborparameter	BRAF-mutiert	BRAF-Wildtyp	p
<b>S100</b>			
Erhöht	n= 3	n= 8	
Nicht erhöht	n= 32	n= 47	
S100 [µg/L]			0,459
Mittelwert	0,081	0,083	
Median	0,054	0,058	
Minimum	0,020	0,011	
Maximum	0,700	0,599	
<b>LDH</b>			
Erhöht	n= 16	n= 27	
Nicht erhöht	n= 18	n= 28	
LDH [µmol/L*s]			0,195
Mittelwert	4,17	4,4	
Median	4,08	4,02	
Minimum	2,43	2,91	
Maximum	10,84	8,51	

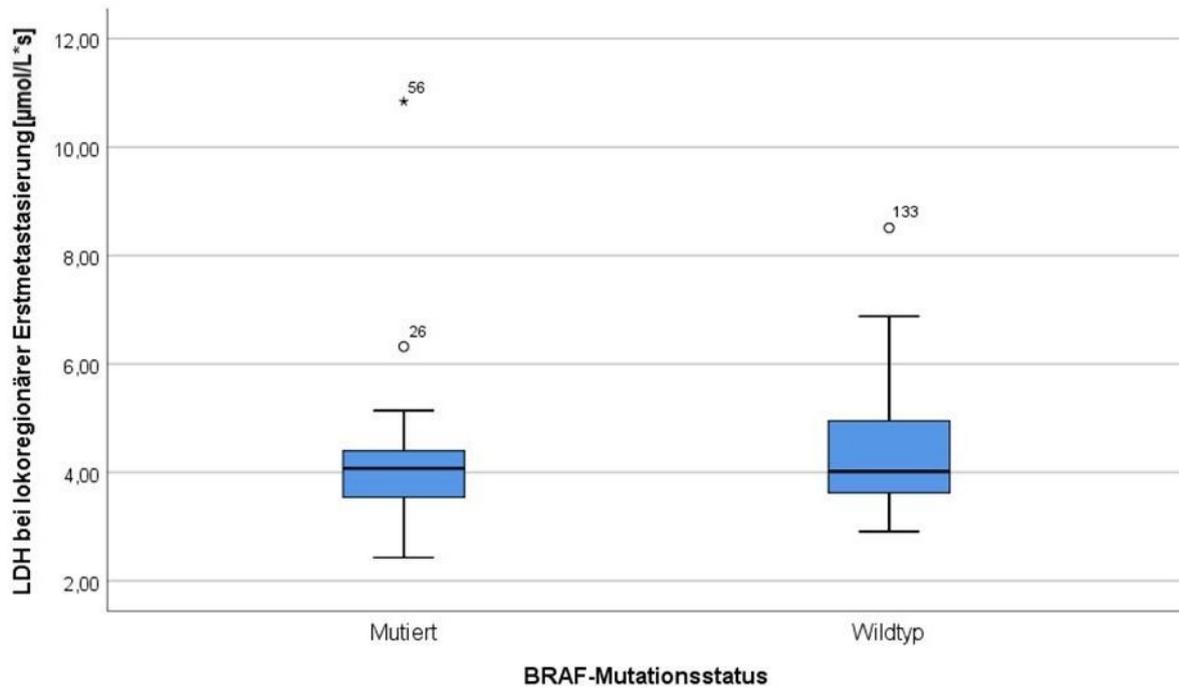
Wie man Tabelle 14 entnehmen kann, liegt der Mittelwert und der mediane Wert des Tumormarkers S100 in beiden Gruppen deutlich unter dem Cut-off-Wert von 0,105 µg/L. Der mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführte Test auf signifikante Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten ergab einen p-Wert von 0,459. Es liegen somit keine signifikanten Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten vor.

Die medianen LDH-Werte für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten liegen für beide Gruppen knapp unter dem Cut-off-Wert von 4,13 µmol/L\*s. Einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ließ sich mittels Mann-Whitney-U-Test nicht nachweisen (p= 0,195).

Zur Veranschaulichung wurden die S100- und LDH-Werte zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III) in Boxplot-Diagrammen dargestellt.



**Abb. 33:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung der S100-Werte zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III), aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test p= 0,459; Ausreißer mit Fallnummern gekennzeichnet



**Abb. 34:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung der LDH-Werte zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III), aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test  $p=0,195$ ; Ausreißer mit Fallnummern gekennzeichnet

### 5.8.2 Analyse der Laborparameter S100 und LDH zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus

Insgesamt wurden für 129 Patienten S100-Werte und für 127 Patienten LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) dokumentiert.

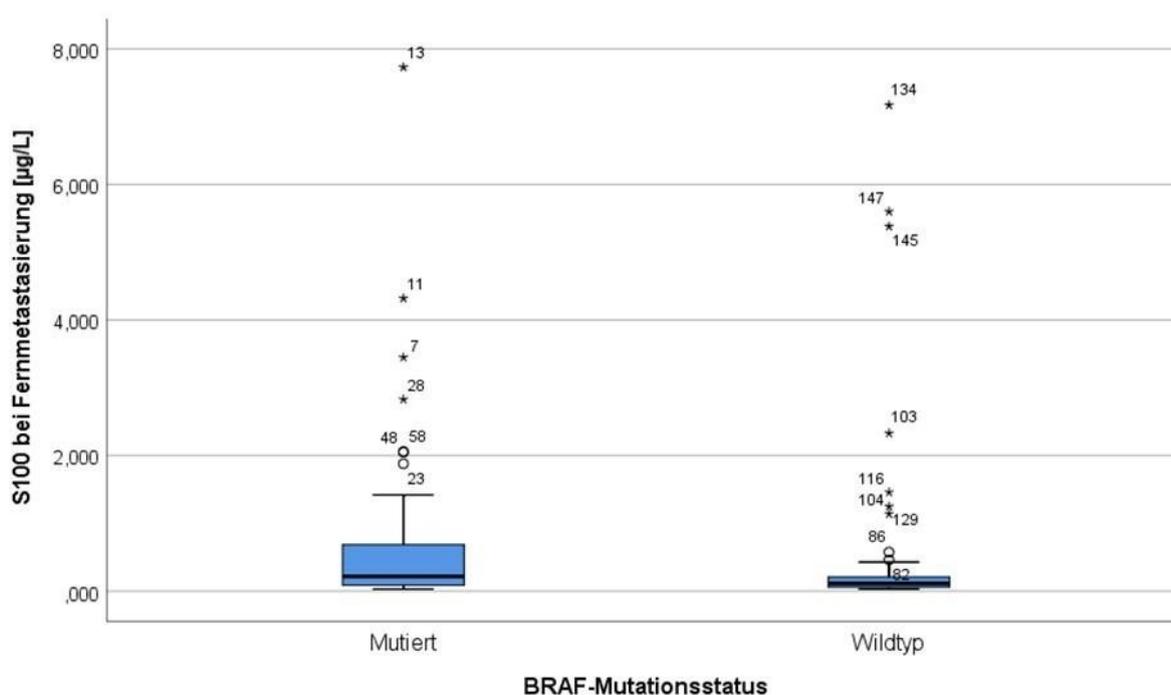
**Tab. 15:** Darstellung der Laborwerte S100 und LDH zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV) aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; p-Werte mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt

Laborparameter	BRAF-mutiert	BRAF-Wildtyp	p
<b>S100</b>			
Erhöht	n= 39	n= 39	
Nicht erhöht	n= 17	n= 34	
S100 [µg/L]			<b>0,002</b>
Mittelwert	0,72	0,45	
Median	0,22	0,16	
Minimum	0,031	0,033	
Maximum	7,73	7,17	
<b>LDH</b>			
Erhöht	n= 36	n= 42	
Nicht erhöht	n= 20	n= 29	
LDH [µmol/L*s]			0,486
Mittelwert	6,50	7,09	
Median	4,83	4,53	
Minimum	2,75	2,72	
Maximum	31,55	67,84	

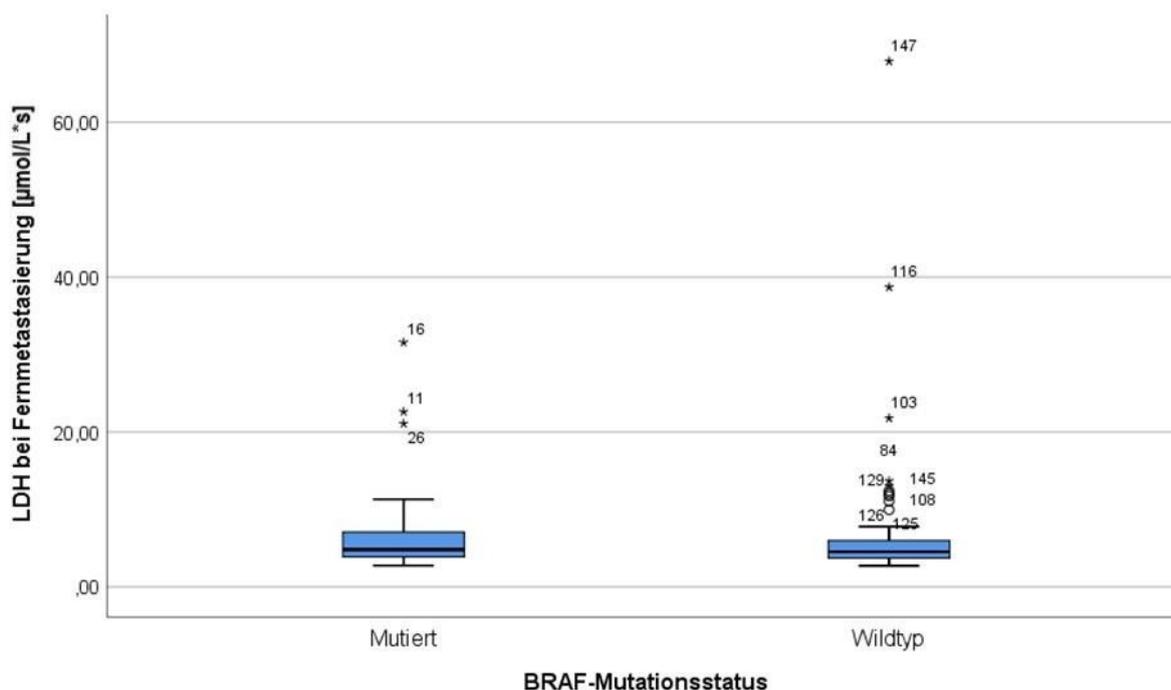
Wie in Tabelle 15 dargestellt, waren die dokumentierten S100-Werte bei Fernmetastasierung signifikant höher ( $p= 0,002$ ) bei BRAF-mutierten Patienten. Die medianen S100-Werte lagen in beiden Gruppen über dem Cut-Off-Wert von  $0,105 \mu\text{g/L}$ . Der Anteil an Patienten mit erhöhten S100-Werten war in der BRAF-mutierten Gruppe deutlich höher als in der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten. In beiden Gruppen gab es mehr Patienten mit erhöhten Werten als mit normwertigen S100-Werten.

Die medianen LDH-Werte unterschieden sich nicht signifikant zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten ( $p=0,486$ ). Sie lagen aber in beiden Gruppen über dem Cut-Off-Wert von  $4,13 \mu\text{mol/L} \cdot \text{s}$ . In beiden Gruppen gab es mehr Patienten mit erhöhten LDH-Werten als mit normwertigen. Der Anteil an Patienten mit erhöhten LDH-Werten innerhalb der Gruppen war annähernd gleich.

Abbildung 35 und 36 stellen die Verteilung der S100- und LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung in Boxplot-Diagrammen graphisch dar.

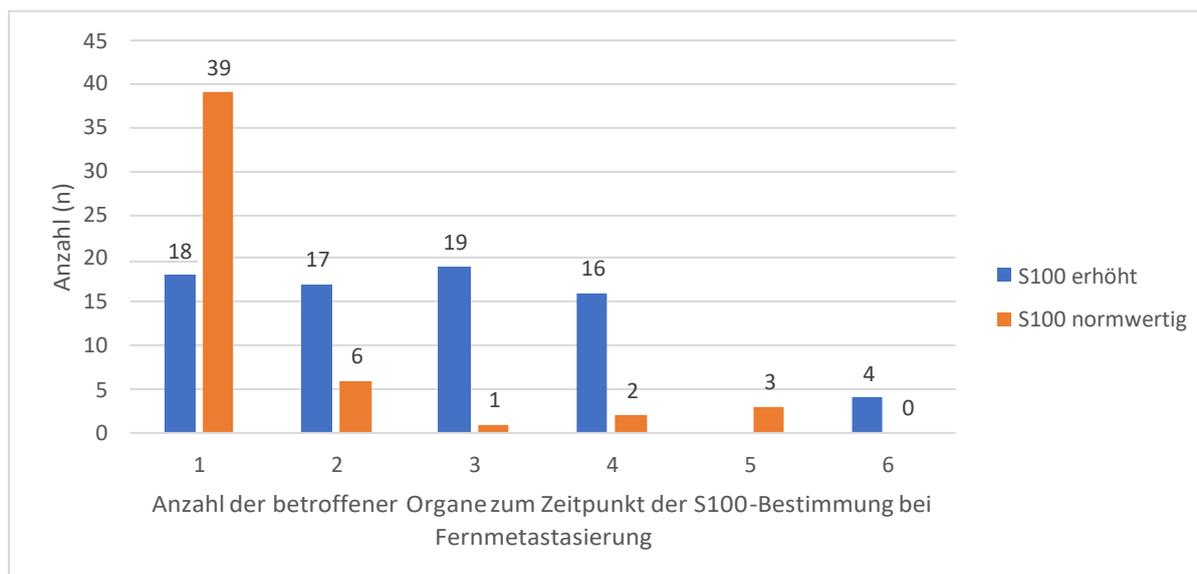


**Abb. 35:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung der S100-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV), aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test:  $p=0,002$ ; Ausreißer mit Fallnummern gekennzeichnet



**Abb. 36:** Boxplot-Diagramm zur Darstellung der LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV), aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; Mann-Whitney-U-Test:  $p=0,486$ ; Ausreißer mit Fallnummern gekennzeichnet

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob die erhöhten S100-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung mit einer erhöhten Tumorlast korrelieren. Dazu wurden die Anzahl der zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung betroffenen Organe in Abhängigkeit von erhöhten und normwertigen S100-Werten in einem gruppierten Balkendiagramm dargestellt. Der durchgeführte Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson zeigte einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl der betroffenen Organe und den erhöhten S100-Werten ( $p < 0,001$ ).

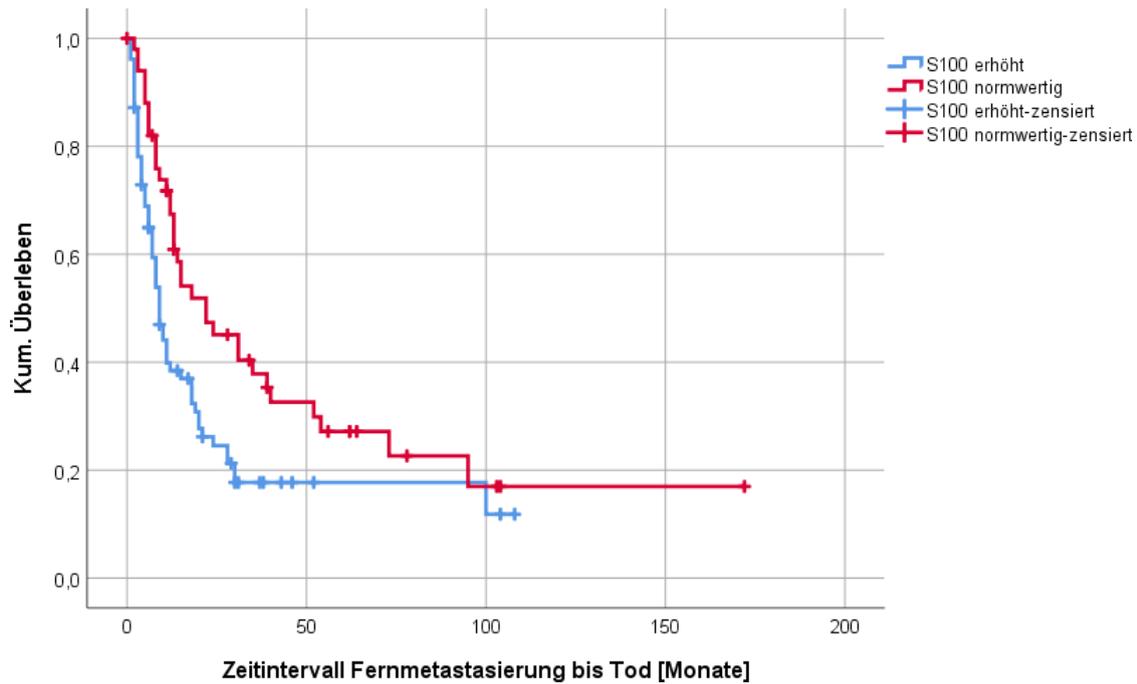


**Abb. 37:** Gruppierendes Balkendiagramm zur Darstellung der Anzahl betroffener Organe zum Zeitpunkt der S100-Bestimmung bei Fernmetastasierung (Stadium IV), aufgeteilt nach erhöhten und normwertigen S100-Werten; Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson  $p < 0,001$

### 5.8.3 Einfluss von S100 und LDH zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung auf das Gesamtüberleben unabhängig vom BRAF-Mutationsstatus

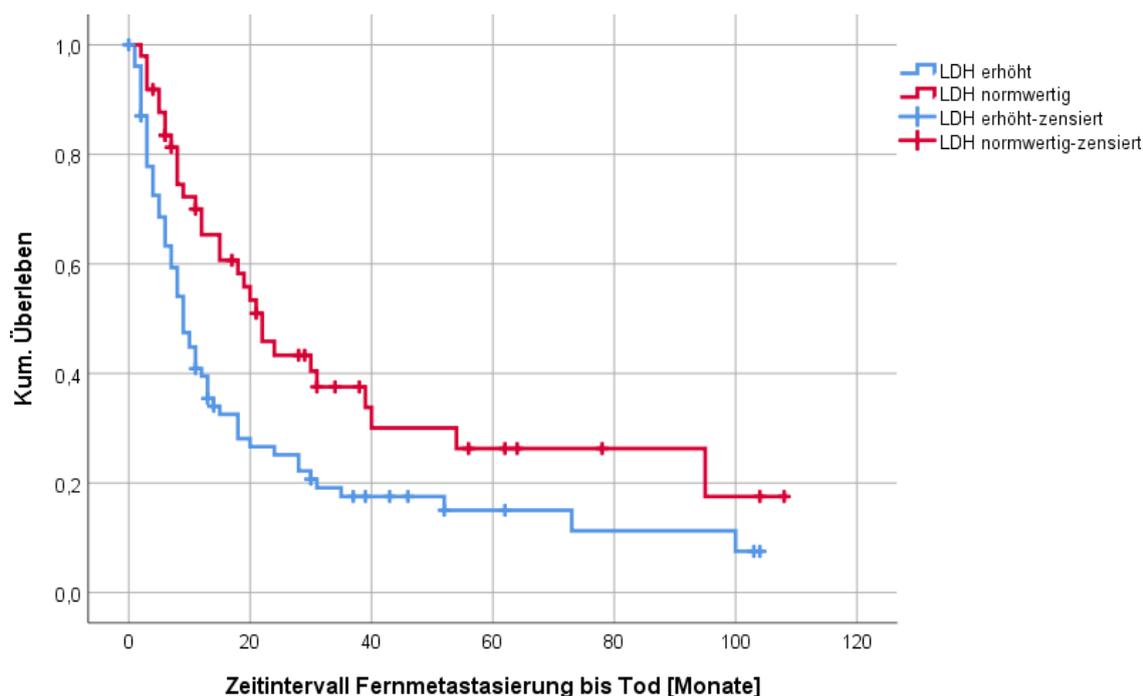
In dieser Analyse wurde das Gesamtüberleben definiert als Zeitintervall zwischen dem Zeitpunkt der ersten Fernmetastasierung bis zum Tod oder letzten dokumentierten Patientenkontakt. Die Patienten wurden entsprechend ihrer erhöhten oder normwertigen S100- und LDH-Werte in Gruppen unterteilt.

Das mediane Überleben lag für die Gruppe der Patienten mit normwertigen S100 - Werten ( $n = 51$ ) bei 22 Monaten und in der Gruppe der Patienten mit erhöhten S100 - Werten ( $n = 78$ ) bei 9 Monaten. Mittels Log-Rank-Test ließ sich nachweisen, dass Patienten mit normwertigen S100-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung ein signifikant längeres Gesamtüberleben aufwiesen als Patienten mit erhöhten S100 - Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung ( $p = 0,008$ ). Die nachfolgende Abbildung zeigt den zugehörigen Kaplan-Meier-Schätzer.



**Abb. 38:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls von der Fernmetastasierung bis zum Tod, aufgeteilt nach normwertigen und erhöhten S100-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV); Log-Rank-Test:  $p=0,008$

Auch die Patienten mit erhöhten LDH-Werten ( $n=78$ ) zeigten ein deutlich kürzeres medianes Gesamtüberleben. Es lag bei 9 Monaten. Bei den Patienten mit normwertigen LDH-Werten ( $n=49$ ) lag das mediane Überleben bei 22 Monaten. Der durchgeführte Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von  $p=0,005$ . Somit liegt ein statistisch signifikant kürzeres Gesamtüberleben für Patienten mit erhöhten LDH-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung gegenüber Patienten mit normwertigen LDH-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung vor. Die nachfolgende Abbildung zeigt den zugehörigen Kaplan-Meier-Schätzer.



**Abb. 39:** Kaplan-Meier-Schätzer zur Darstellung des Zeitintervalls von der Fernmetastasierung bis zum Tod, aufgeteilt nach normwertigen und erhöhten LDH-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung (Stadium IV); Log-Rank-Test:  $p=0,005$

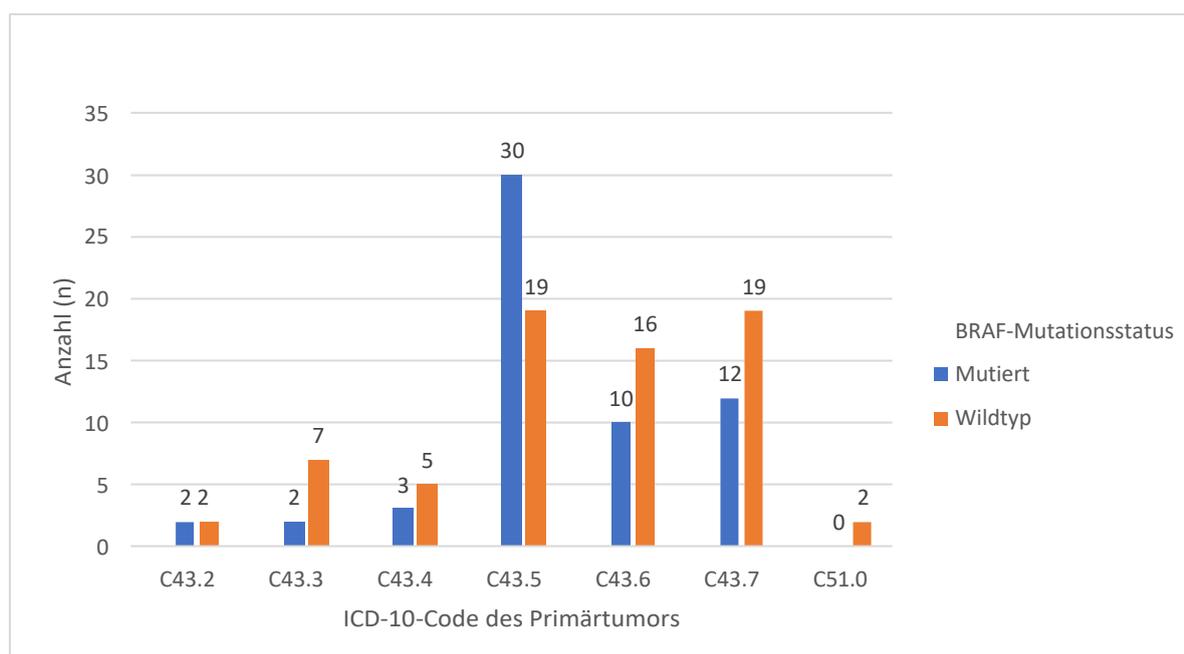
## 5.9 VERGLEICH DER LOKALISATION KUTANER MELANOME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

Insgesamt traten im Patientenkollektiv 129 kutane Melanome auf. Durch die ICD-10-Codierung konnten die kutanen Melanome in die betroffenen Körperregionen eingeordnet werden.

Tabelle 16 zeigt eine Übersicht der ICD-10-Codierung kutaner Melanome. Abbildung 40 zeigt die Verteilung der kutanen Melanome als gruppiertes Balkendiagramm aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus im untersuchten Patientenkollektiv. Auffällig ist, dass 30 Patienten der BRAF-mutierten Patienten Melanome am Rumpf entwickelten, während es in der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten lediglich 19 waren. Die mittels Chi<sup>2</sup>-Test durchgeführte Signifikanzprüfung ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied der Verteilung kutaner Melanome zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten ( $p=0,131$ ).

**Tab 16:** Übersicht ICD-10-Codierung kutaner maligner Melanome

ICD-10-Code	Beschreibung
C43.0	Bösartiges Melanom der Lippe
C43.1	Bösartiges Melanom des Augenlides, einschließlich Kanthus
C43.2	Bösartiges Melanom des Ohres und des äußeren Gehörgangs
C43.3	Bösartiges Melanom sonstiger und nicht näher bezeichneter Teile des Gesichts
C43.4	Bösartiges Melanom der behaarten Kopfhaut und des Halses
C43.5	Bösartiges Melanom des Rumpfes
C43.6	Bösartiges Melanom der oberen Extremität, einschließlich Schulter
C43.7	Bösartiges Melanom der unteren Extremität, einschließlich Hüfte
C43.8	Bösartiges Melanom der Haut, mehrere Teilbereiche überlappend
C43.9	Bösartiges Melanom der Haut, nicht näher bezeichnet



**Abb 40:** Gruppierendes Balkendiagramm zur Darstellung der Verteilung kutaner Melanome aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus (n= 129);  $\chi^2$ -Test  $p= 0,131$ ; (C51.0 bösartige Neubildung der Vulva)

## 5.10 VERGLEICH DER DICKE UND DER INVASIONSTIEFE KUTANER MELANOME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

Für den Vergleich der Dicke kutaner Melanome wurde die Tumordicke nach Breslow in Kategorien entsprechend der Tumorstadien T1-T4 eingeteilt. Außerdem wurde die Invasionstiefe des Primärtumors über die Angabe des Clark-Levels definiert.

**Tab. 17:** Darstellung der Tumordicke nach Breslow und Invasionstiefe nach Clark, aufgeteilt nach BRAF-Mutationsstatus; p-Werte durch Chi<sup>2</sup>-Test ermittelt

		<b>BRAF-mutiert (%)</b>	<b>BRAF-Wildtyp (%)</b>	<b>p</b>
<b>Breslow-Level [Millimeter]</b>				0,984
T1	≤ 1,00	n= 7 (11,9)	n= 9 (12,9)	
T2	1,01- 2,00	n= 16 (27,1)	n= 18 (25,7)	
T3	2,01- 4,00	n= 17 (28,8)	n= 21 (30,0)	
T4	≥ 4,00	n= 17 (28,8)	n= 18 (25,7)	
	Unbekannt	n= 2 (3,4)	n= 4 (5,7)	
<b>Clark-Level</b>				0,295
	1	n= 0 (0,0)	n= 0 (0,0)	
	2	n= 3 (5,1)	n= 10 (14,2)	
	3	n= 18 (30,5)	n= 16 (22,9)	
	4	n= 23 (39,0)	n= 23 (32,9)	
	5	n= 7 (11,9)	n= 9 (12,9)	
	Unbekannt	n= 8 (13,5)	n= 12 (17,1)	

Wie man Tabelle 17 entnehmen kann, bestehen nur geringfügige Unterschiede in der Tumordicke nach Breslow und der Invasionstiefe nach Clark zwischen den Gruppen der BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. Die mittels Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson durchgeführten Signifikanztests ergaben keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

## 6 DISKUSSION

---

### 6.1 ERGEBNISSE DER BRAF-MUTATIONSANALYSE

In der Literatur lassen sich mehrere Studien finden, die sich mit der Häufigkeit von BRAF-Mutationen in metastasierten MM beschäftigen. Während Chang et al. im Jahr 2004 eine Häufigkeit von 48 % in ihrer Studie berichteten (Chang et al. 2004), gaben Ekedahl et al. 2013 eine Häufigkeit von 41 % für BRAF-mutierte metastasierte MM an (Ekedahl et al. 2013).

In unserer Studie ergab sich eine Häufigkeit von 42 % für BRAF-mutierte metastasierte MM. Dieses Ergebnis deckt sich mit den in der Literatur zu findenden Häufigkeiten von BRAF-Mutationen in metastasierten MM.

Eine im Jahr 2011 von Lee et al. durchgeführte Metaanalyse zeigte eine Häufigkeit von 42 % für BRAF-mutierte Melanome in einer Kohorte von 2521 Patienten mit kutanem MM, die auf BRAF-Mutationsstatus getestet wurden (Lee et al. 2011).

Während Platz et al. 2008 eine Häufigkeit von 90 % für V600E-Mutationen berichteten (Platz et al. 2008), zeigen aktuellere Studien eine etwas niedrigere Frequenz für V600E-Mutationen von ca. 74-88 % und eine höhere Frequenz für nicht-V600E-Mutationen, vorrangig V600K (Long et al. 2011, Ekedahl et al. 2013). In unserer Studie zeigte sich innerhalb der BRAF-mutierten Kohorte eine Häufigkeit von 83 % für die V600E-Mutation, 15 % für die V600K-Mutation und 1 % andere Mutationen.

Ein Unterschied in der Geschlechtsverteilung nach BRAF-Mutationsstatus ließ sich in unserer Studie, wie auch bereits in anderen Studien beschrieben, nicht nachweisen (Schlaak et al. 2013, Saint-Jean et al. 2014, Lee et al. 2011, Menzies et al. 2012).

## 6.2 DESKRIPTIVE DARSTELLUNG IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS

Die in unserer Studie untersuchten BRAF-mutierten Patienten waren signifikant jünger zum Zeitpunkt der Erstdiagnose des MM als BRAF-Wildtyp Patienten. Das mediane Alter bei Erstdiagnose lag für BRAF-mutierte Patienten bei 56 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 66 Jahren. Long et al. zeigten 2011 an 166 untersuchten Patienten ebenfalls einen signifikanten Altersunterschied bei Erstdiagnose des MM zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten. Das mediane Alter bei Erstdiagnose lag bei ihnen für BRAF-mutierte Patienten bei 52 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 61 Jahren. Während sich der Altersunterschied zwischen den Gruppen mit unseren Ergebnissen deckt, liegt das Alter bei Erstdiagnose in beiden Gruppen deutlich unter unseren Ergebnissen. Dies ist auf das niedrigere Erkrankungsalter bei Erstdiagnose in Australien, wo Long et al. die Studie durchführten, zurückzuführen (Long et al. 2011). Eine von Chang et al. 2004 in New York durchgeführte Studie zeigte mediane Alter bei Erstdiagnose von 56 und 65 Jahren für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten (Chang et al. 2004). Neben den beiden genannten Arbeiten gibt es weitere Studien, die ein signifikant niedrigeres Alter bei Erstdiagnose für BRAF-mutierte Patienten berichten (Edlundh-Rose et al. 2006, Eigentler et al. 2016, Liu et al. 2007, Maldonado et al. 2003, Platz et al. 2008).

Die Verteilung der Melanomarten innerhalb der BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wies einen etwas höheren prozentualen Anteil kutaner Melanome innerhalb der BRAF-mutierten Gruppe (86 %) gegenüber den BRAF-Wildtyp Patienten (73 %) auf. Insgesamt ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Häufigkeiten der Melanomarten in den Gruppen der BRAF-mutierten und der BRAF-Wildtyp Patienten nachweisen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Schlaak et al. 2013. Sie berichteten in ihrer Studie von 80 % kutanen MM bei BRAF-mutierten Patienten und 72 % kutane MM bei BRAF-Wildtyp Patienten (Schlaak et al. 2013).

Alle sieben in unserer Patientenkohorte diagnostizierten Augenmelanome wiesen einen BRAF-Wildtyp auf (sechs Melanome der Choroidea, ein Melanom des Ziliarkörpers). Während Melanome der Choroidea oder des Ziliarkörpers praktisch keine BRAF-Mutationen aufweisen, kommen BRAF-Mutationen bei Melanomen der Iris und der Konjunktiva selten vor (Sekulic et al. 2008). Dennoch wurden in den letzten

Jahren an der Hautklinik des Universitätsklinikums Jena alle Augenmelanome auf ihren BRAF-Mutationsstatus getestet, da im Jahr 2012 die Lebermetastase eines Augenmelanoms fälschlicherweise als BRAF-positiv getestet wurde.

Das häufigste klinische Tumorstadium nach AJCC bei Erstdiagnose des MM war in beiden Gruppen Stadium II. Insgesamt zeigte die Verteilung der Tumorstadien nur geringe Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. Somit konnte für das von uns untersuchte Patientenkollektiv gezeigt werden, dass BRAF-mutierte Patienten keine höheren Tumorstadien bei Erstdiagnose aufweisen.

In der Literatur lassen sich zum Tumorstadium nach AJCC bei Erstdiagnose des MM verschiedene Angaben finden. Maxwell et al. zeigten 2017 anhand der Daten von 225 Patienten, dass BRAF-mutierte Patienten ein höheres Tumorstadium bei Erstdiagnose aufwiesen als BRAF-Wildtyp Patienten. Hier ist allerdings kritisch anzumerken, dass die Tumorstadien 0, I und II zu einer Gruppe zusammengefasst wurden und die Tumorstadien III und IV jeweils eine Gruppe darstellten (Maxwell et al. 2017). Long et al. analysierten die Tumorstadien nicht in Gruppen zusammengefasst und konnten in ihrer Studie keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten feststellen (Long et al. 2011).

### **6.3 UNTERSUCHUNG DER METASTASIERUNGSZEITPUNKTE IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

Zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung waren die BRAF-mutierten Patienten in unserer Studie signifikant jünger als die BRAF-Wildtyp Patienten. Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Erstmetastasierung lag für BRAF-mutierte Patienten bei 57 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 67 Jahren. Hierbei muss allerdings beachtet werden, dass nicht zwischen lokoregionären Metastasen (Stadium III) und Fernmetastasen (Stadium IV) unterschieden wurde. Auch zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung waren BRAF-mutierte Patienten (58,5 Jahre) signifikant jünger als BRAF-Wildtyp Patienten (70 Jahre).

Zur Überprüfung der Datenlage zum Alter bei Erstmetastasierung ließen sich in der Literatur nur wenige Studien finden. Ekedahl et al. zeigten 2013 ein niedrigeres Alter bei Erstmetastasierung für BRAF-mutierte Patienten gegenüber BRAF-Wildtyp. Der

dort beschriebene mediane Altersunterschied bei Erstmetastasierung liegt lediglich bei drei Jahren (medianes Alter 59 Jahre BRAF-mutiert und 62 Jahre BRAF-Wildtyp). Das ebenfalls in dieser Studie verglichene mediane Alter bei Fernmetastasierung differierte um ein Jahr (medianes Alter 61 BRAF-mutiert und 62 Jahre BRAF-Wildtyp) (Ekedahl et al. 2013). Das Alter bei Fernmetastasierung wurde schon in mehreren Studien untersucht und als signifikant jünger für BRAF-mutierte Patienten beschrieben (Long et al. 2011, Saint-Jean et al. 2014). Verglichen mit dem angegebenen Alter bei Fernmetastasierung bei Long et al. (medianes Alter 56 BRAF-mutiert und 63 Jahre BRAF-Wildtyp) sind die in unserer Studie beobachteten Patienten bei Fernmetastasierung deutlich älter (medianes Alter 58,5 BRAF-mutiert und 70 Jahre BRAF-Wildtyp). Dies ist am ehesten auf das niedrigere Erkrankungsalter in Australien, in der die untersuchte Patientenkohorte bei Long et al. lebte, zurückzuführen.

#### **6.4 UNTERSUCHUNG DER METASTASIERUNGSZEITRÄUME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSTATUS**

Die Untersuchung der Metastasierungszeiträume erfolgte in unserer Studie sehr ausführlich, um einen möglichen Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten herauszustellen. Eine derart detaillierte Aufarbeitung lässt sich bis zu diesem Zeitpunkt in der Literatur nicht finden.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass sich die untersuchten Metastasierungszeiträume in unserer Studie mit den bisher veröffentlichten Daten anderer Studie decken. Allerdings sollte beachtet werden, dass es sich bei unserer Studie um eine retrospektive Studie handelt, die sich über einen langen Beobachtungszeitraum erstreckt. So änderte sich z.B. die Einteilung in die Tumorstadien nach AJCC über den Beobachtungszeitraum mehrfach. Außerdem wurden anders als in anderen Studien in unserer Studie nicht nur kutane MM beobachtet, sondern auch Schleimhautmelanome, Augenmelanome und okkulte Melanome. Des Weiteren wurden NRAS-mutierte Patienten in unserer Studie nicht gesondert betrachtet, sondern nach Feststellung des BRAF-Wildtyp Status in die Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten eigeordnet.

#### **6.4.1 Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV)**

Die BRAF-mutierten Patienten unserer Patientenkohorte zeigten ein medianes Überleben für den beobachteten Metastasierungszeitraum von der Erstdiagnose des MM bis zur Erstmetastasierung von 0,3 Jahren. Für BRAF-Wildtyp Patienten lag es bei einem Jahr. Trotz des etwas längeren progressionsfreien medianen Überlebens für BRAF-Wildtyp-Patienten ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten nachweisen.

Der beschriebene Metastasierungszeitraum wurde ebenfalls in der von Saint-Jean et al. 2014 veröffentlichten Studie untersucht. Auch sie stellten keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten fest. Auf eine Angabe des medianen Überlebens für den beobachteten Metastasierungszeitraum wurde in dem veröffentlichten Paper verzichtet (Saint-Jean et al. 2014).

#### **6.4.2 Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Erstmetastasierung (Stadium III und IV) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose**

Für den untersuchten Metastasierungszeitraum zeigte sich in unserer Patientenkohorte ein medianes Überleben für BRAF-mutierte Patienten (n= 36) von 2,2 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten (n= 49) von 2,3 Jahren. Der Metastasierungszeitraum zwischen Erstdiagnose und Erstmetastasierung bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose unterschied sich nicht signifikant zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten.

Zu diesem Ergebnis kamen auch St. Jean et al. in ihrer 2014 veröffentlichten Arbeit. Sie gaben in ihrem Paper lediglich an, dass kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten für den untersuchten Metastasierungszeitraum bestand. Sie verzichteten auf die genauen Angaben des Metastasierungszeitraums (Saint-Jean et al. 2014).

#### **6.4.3 Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose**

Der Metastasierungszeitraum von der Erstdiagnose des MM bis zur lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III) bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose wurde ebenfalls von St Jean et al. in ihrer Arbeit 2014 untersucht. Das mediane Überleben für diesen Metastasierungszeitraum betrug für BRAF-mutierte Patienten 3,1 Jahre, für BRAF-Wildtyp Patienten 2,6 Jahre und wies keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf (Saint-Jean et al. 2014).

In dem von uns untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich ein medianes Überleben für BRAF-mutierte Patienten (n=18) von 1,2 Jahren und für BRAF-Wildtyp Patienten (n=29) von 2,3 Jahren. Entgegen den von St. Jean et al. veröffentlichten Ergebnissen, zeigte sich in unserer Untersuchung ein kürzeres medianes Überleben für BRAF-mutierte Patienten, gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten. Einen statistisch signifikanten Unterschied für den Metastasierungszeitraum zwischen Erstdiagnose des MM und lokoregionärer Erstmetastasierung bei Patienten im nicht-metastasierten Stadium bei Erstdiagnose zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten konnten auch wir nicht nachweisen.

#### **6.4.4 Metastasierungszeitraum: Erstdiagnose bis Fernmetastasierung (Stadium IV)**

BRAF-mutierte Patienten (n= 58) wiesen in unserer Studie ein medianes Überleben für den Metastasierungszeitraum von der Erstdiagnose des MM bis zur Fernmetastasierung (Stadium IV) von 1,6 Jahren auf. Für BRAF-Wildtyp Patienten (n= 76) hatten ein etwas längeres medianes Überleben von 2,2 Jahren für den untersuchten Zeitraum. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten ließ sich nicht nachweisen.

Dieser Metastasierungszeitraum wurde bereits von mehreren veröffentlichten Studien für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten untersucht. Auch in diesen Studien wurde kein signifikanter Unterschied für die Zeit von der Erstdiagnose des MM bis zur

Fernmetastasierung zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten nachgewiesen. In den Papern der Studien wurden allerdings keine genauen Zeiträume veröffentlicht (Saint-Jean et al. 2014, Long et al. 2011, Chang et al. 2004, Menzies et al. 2012). Schlaak et al. wiesen 2013 ebenfalls keinen signifikanten Unterschied für den untersuchten Metastasierungszeitraum zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten nach. Sie gaben ein medianes Überleben von 3,3 Jahren für BRAF-mutierte Patienten und 1,8 Jahre für BRAF-Wildtyp Patienten an.

#### **6.4.5 Metastasierungszeitraum: lokoregionäre Erstmetastasierung (Stadium III) bis Fernmetastasierung (Stadium IV)**

Für den Metastasierungszeitraum von der lokoregionären Erstmetastasierung bis zur Fernmetastasierung lag das mediane Überleben für BRAF-mutierte Patienten (n= 28) und BRAF-Wildtyp Patienten (n= 37) bei 1,3 Jahren. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Zu diesem Ergebnis kamen auch andere Studien, die diesen Metastasierungszeitraum untersuchten. Die genauen Angaben der medianen Überlebenszeiten für den Metastasierungszeitraum war den veröffentlichten Arbeiten nicht zu entnehmen (Ekedahl et al. 2013, Long et al. 2011, Chang et al. 2004).

### **6.5 GESAMTÜBERLEBEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

Die in unserer Studie untersuchten Patientengruppen der BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten wiesen keinen signifikanten Unterschied im medianen Gesamtüberleben auf. Es lag in beiden Gruppen bei sechs Jahren. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug für BRAF-mutierte Patienten 52,5 % und BRAF-Wildtyp Patienten 57,5 %. Die 10-Jahres-Überlebensrate lag für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten bei 31,5 % und 32,5 %. Allerdings muss beachtet werden, dass 70 % der BRAF-mutierten Patienten im Verlauf ihrer Erkrankung eine BRAF-Inhibitor-Therapie erhielten und somit von einer gezielten Therapie profitierten.

Zwei ebenfalls retrospektive Studien aus Frankreich und Schweden fanden heraus, dass sich das Gesamtüberleben zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten nicht signifikant unterschied. Auch sie schlossen BRAF-mutierte Patienten mit BRAF-Inhibitor-Therapie ein. Die 5- und 10-Jahres-Überlebensraten wurden dabei nicht angegeben (Saint-Jean et al. 2014, Ekedahl et al. 2013).

Andere Studien aus den Jahren 2012 und 2011 zeigten ein kürzeres Gesamtüberleben für BRAF-mutierte Patienten. Allerdings erhielten diese Patienten keine BRAF-Inhibitor-Therapie im Krankheitsverlauf (Moreau et al. 2012, Long et al. 2011).

Die geschilderten Ergebnisse aus der bestehenden Literatur und die Ergebnisse unserer Arbeit zeigen deutlich, dass BRAF-mutierte Patienten im metastasierten Stadium von einer gezielten BRAF-Inhibitor-Therapie profitieren.

Mittels einer multivariaten Cox-Regression wurden weitere Variablen auf ihren Einfluss auf das Gesamtüberleben unserer Patientenkohorte geprüft. Es zeigte sich, dass lediglich das Alter bei Erstdiagnose und die Tumordicke nach Breslow signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben hatten. Höheres Alter bei Erstdiagnose (HR 1,024) und dickere Primärtumoren nach Breslow (HR 1,072) gehen mit einem schlechteren Gesamtüberleben einher. Die Variablen Geschlecht, Invasionstiefe nach Clark, S100- und LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben.

In der von Crocetti et al. 2006 veröffentlichten Studie zeigte sich mittels multivariater Cox-Regression ebenfalls ein schlechteres Gesamtüberleben für Patienten mit höherem Alter bei Erstdiagnose und dickeren Primärtumoren nach Breslow. Außerdem zeigten sie, im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, dass auch das Geschlecht und die Invasionstiefe nach Clark einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben hatten. So zeigten in ihrer Analyse Frauen und kleinere Clark-Level ein signifikant längeres Gesamtüberleben (Crocetti et al. 2006).

## **6.6 ANALYSE AUFGETRETER FERNMETASTASEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

In unserer beobachteten Patientenkohorte zeigte sich keine signifikant höhere Tumorlast für BRAF-mutierte Patienten im fernmetastasierten Stadium (Stadium IV) gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten. Im Gegensatz dazu zeigten Chang et al. 2004 eine höhere Tumorlast für BRAF-mutierte Patienten gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten, durch mehr von Fernmetastasen betroffene Organe in BRAF-mutierten Patienten (Chang et al. 2004). Die am häufigsten von Fernmetastasen betroffenen Organe waren in unserer Studie Lunge und Gehirn. Unabhängig vom BRAF-Mutationsstatus der Patienten traten Lungenmetastasen bei 79 Patienten (48 %) auf. Gehirnmetastasen wiesen 68 (41 %) der insgesamt 165 Patienten auf. Dies korreliert mit den Ergebnissen von Maxwell et al. 2017. Auch sie zeigten, dass die Lunge und das Gehirn am häufigsten von Fernmetastasen betroffen waren. Sie untersuchten in ihrer Studie 225 Patienten und konnten bei 35 % der Patienten Lungenmetastasen und bei 29 % Gehirnmetastasen nachweisen (Maxwell et al. 2017). Auch in anderen Studien war die Lunge das am häufigsten von Fernmetastasen betroffene Organ (Jakob et al. 2012, Carlino et al. 2014). Jakob et al. untersuchten retrospektiv Daten von 512 Patienten, die im Krankheitsverlauf Fernmetastasen entwickelten. 307 Patienten (60 %) entwickelten Lungenmetastasen (Jakob et al. 2012).

### **6.6.1 Lungenmetastasen**

In unserer Patientenkohorte gab es keinen signifikanten Unterschied im Auftreten von Lungenmetastasen zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. 32 (55 %) der 58 von Fernmetastasen betroffenen BRAF-mutierten Patienten entwickelten Lungenmetastasen. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es 47 (62 %) von 76 Patienten.

Jakob et al. untersuchten 2012 ebenfalls die Verteilung aufgetretener Lungenmetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus. Auch sie zeigten einen etwas höheren prozentualen Anteil für das Auftreten von Lungenmetastasen in der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten gegenüber den BRAF-mutierten Patienten. Bei ihnen wiesen 55 % der BRAF-mutierten Patienten Lungenmetastasen auf und

66 % der BRAF-Wildtyp Patienten. Jakob et al. konnten allerdings auch keinen statistisch signifikanten Unterschied für das Auftreten von Lungenmetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus herausarbeiten (Jakob et al. 2012).

### 6.6.2 Gehirnetastasen

In der von uns beobachteten Patientenkohorte traten in der Gruppe der BRAF-mutierten Patienten bei 40 (69 %) der 58 Patienten Gehirnetastasen auf. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es lediglich 28 (37 %) der 76 Patienten. Somit konnte ein statistisch signifikanter Unterschied für das Auftreten von Gehirnetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus in der von uns untersuchten Patientenkohorte nachgewiesen werden. Auch in der Literatur lassen sich Studien finden, die ein signifikant erhöhtes Auftreten von Gehirnetastasen bei BRAF-mutierten Patienten berichten. So zeigten Adler et al. 2017, dass in ihrem untersuchten Patientenkollektiv 50 der 77 Patienten, die Gehirnetastasen entwickelten, eine BRAF-Mutation aufwiesen (Adler et al. 2017). In der von Jakob et al. 2012 veröffentlichten Studie zeigten sich ebenfalls signifikant mehr Gehirnetastasen unter BRAF-mutierten Patienten (24 %) als unter BRAF-Wildtyp Patienten (12 %) (Jakob et al. 2012).

Bei der Untersuchung des Überlebens der Patienten mit Gehirnetastasen zwischen BRAF-mutierten Patienten mit BRAF-Inhibitor im Krankheitsverlauf, BRAF-mutierten Patienten ohne BRAF-Inhibitor im Krankheitsverlauf und BRAF-Wildtyp Patienten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Zeitintervall von der Diagnose der Gehirnetastasen bis zum Tod. Das mediane Überleben lag für BRAF-mutierte Patienten mit BRAF-Inhibitortherapie bei 8 Monaten, für BRAF-mutierte Patienten ohne BRAF-Inhibitortherapie bei 7 Monaten und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 4 Monaten. In der Literatur lassen sich dazu unterschiedliche Ergebnisse finden. Mastorakos et al. zeigten 2018 ein statistisch signifikant längeres medianes Überleben nach Diagnose der Gehirnetastasen für BRAF-mutierte Patienten mit BRAF-Inhibitortherapie (16 Monate) gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten (9 Monate). Das längste mediane Überleben nach Diagnose der Hirnetastasen zeigten in ihrer Arbeit die BRAF-mutierten Patienten, die keine BRAF-Inhibitortherapie erhielten (36 Monate) (Mastorakos et al. 2018). Gummadi et al. zeigten 2015 zwar eine bessere

Tumorkontrolle unter BRAF-Inhibitortherapie, allerdings keine signifikante Verbesserung des Überlebens nach Diagnose der Gehirnmetastasen. Mediane Überlebenszeiten waren dem veröffentlichten Paper nicht zu entnehmen (Gummadi et al. 2015).

### **6.6.3 Knochenmetastasen**

In unserer Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Knochenmetastasen und dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten nachweisen. In der Gruppe der BRAF-mutierten Patienten entwickelten 24 Patienten (41 %) Knochenmetastasen. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es 32 Patienten (42 %). In der von Jakob et al. 2012 veröffentlichten Arbeit wiesen 20 % der BRAF-mutierten Patienten Knochenmetastasen auf und 17 % der BRAF-Wildtyp Patienten. Auch sie konnten keinen statistisch signifikanten Unterschied für das Auftreten von Knochenmetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus nachweisen (Jakob et al. 2012).

### **6.6.4 Lebermetastasen**

In unserer Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Lebermetastasen und dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten nachweisen. Insgesamt wiesen in unserem Patientenkollektiv unter allen von Fernmetastasen betroffenen Patienten 20 BRAF-mutierte Patienten (34%) Lebermetastasen auf.

In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es 28 (37 %). In der Literatur gibt es dazu gemischte Ergebnisse. Sowohl Chang et al., als auch Adler et al. berichten in ihren Studien über ein statistisch signifikant häufigeres Auftreten von Lebermetastasen bei BRAF-mutierten Patienten gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten. In der von Chang et al. 2004 veröffentlichten Studie wiesen 11 (41 %) BRAF-mutierte Patienten Lebermetastasen auf, während lediglich 3 (13 %) der BRAF-Wildtyp Patienten Lebermetastasen entwickelten (Chang et al. 2004). Adler et al. zeigten 2017, dass 40 der 65 registrierten Lebermetastasen in BRAF-mutierten Patienten auftraten. Sie wiesen einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten der

Lebermetastasen und dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten nach (Adler et al. 2017).

Die Studie von Jakob et al. zeigte korrelierend zu unseren Ergebnissen keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Lebermetastasen und dem BRAF-Mutationsstatus. Sie wiesen Lebermetastasen bei 21 % der BRAF-mutierten Patienten und bei 23 % der BRAF-Wildtyp Patienten nach (Jakob et al. 2012).

Aufgrund der gemischten Datenlage zum Auftreten von Lebermetastasen in Abhängigkeit vom BRAF-Mutationsstatus der Patienten sollten zukünftige Studien diese Fragestellung auch untersuchen.

## **6.7 ANALYSE DER LABORPARAMETER S100 UND LDH IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

In unserer Studie lagen die medianen S100- und LDH-Werte bei Diagnose der lokoregionären Metastasierung (Stadium III) unterhalb der jeweiligen Cut-Off-Werte. Die medianen S100-Werte lagen für BRAF-mutierte Patienten bei 0,054 µg/L und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 0,058 µg/L (normwertig bei <0,105 µg/L). Die medianen LDH-Werte zum Zeitpunkt der lokoregionären Metastasierung lagen bei 4,08 µmol/L\*s und 4,02 µmol/L\*s für BRAF-mutierte und BRAF-Wildtyp Patienten (normwertig < 4,13 µmol/L\*s). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten.

Bereits im Jahr 2002 berichteten Bánfalvi et al. ebenfalls normwertige mediane S100-Werte im Serum der Patienten mit MM im Stadium III. Der mediane S100-Wert lag bei 0,007 µg/L. Der mediane LDH-Wert der Patienten war allerdings erhöht. Er lag bei 5,82 µmol/L\*s. Eine Unterscheidung zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten erfolgte in der Studie nicht (Bánfalvi et al. 2002).

Die medianen S100- und LDH-Werte bei Diagnose der Fernmetastasierung (Stadium IV) waren sowohl für BRAF-mutierte, als auch für BRAF-Wildtyp Patienten in unserem Patientenkollektiv erhöht und lagen über den jeweiligen Cut-Off-Werten.

Der mediane S100-Wert der BRAF-mutierten Patienten war in unserem Patientenkollektiv signifikant höher (0,22 µg/L), als der der BRAF-Wildtyp Patienten (0,16 µg/L). Zu diesem Ergebnis kamen auch Frauchiger et al. in ihrer Studie 2016. In ihrer Studie lag der mediane S100-Wert BRAF-mutierter Patienten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung bei 0,4 µg/L und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 0,2 µg/L. Wie auch in unserer Arbeit zeigten BRAF-mutierte Patienten dort aber nicht signifikant mehr von Fernmetastasen betroffene Organe (Frauchiger et al. 2016). Eine mögliche Erklärung dafür wäre die Interaktion von BRAF-Kinasen mit dem Tumorsuppressorprotein p53. Dabei wird die Aktivität des Tumorsuppressorproteins p53 herunterreguliert. Auch S100 interagiert mit p53 und so könnte die Herunterregulierung des p53 als Erklärung für erhöhte S100-Werte dienen (Donato 2001, Yu et al. 2009).

Erhöhte S100-Werte gingen, unabhängig vom BRAF-Mutationsstatus der Patienten, in unserer Beobachtung allerdings signifikant häufiger mit einer erhöhten Anzahl von Fernmetastasen betroffenen Organen einher ( $p < 0,001$ ). Dieses Ergebnis stützt die Rolle des S100 als wichtiger Tumormarker und Verlaufsparemeter in der Therapie des MM (Wevers et al. 2013).

Für die erhöhten medianen LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung ließ sich in unserer Patientenkohorte kein signifikanter Unterschied zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten zeigen ( $p = 0,486$ ). Sie lagen für BRAF-mutierte Patienten bei 4,83 µmol/L\*s und für BRAF-Wildtyp Patienten bei 4,53 µmol/L\*s.

Sowohl die erhöhten S100-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung, als auch die erhöhten LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung gingen in unserer Studie mit einem verkürzten medianen Überleben einher. Patienten mit normwertigen S100-Werten hatten ein medianes Überleben von 22 Monaten, während Patienten mit erhöhten S100-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung ein medianes Überleben von 9 Monaten aufwiesen. Diesen Zusammenhang zeigten Frauchiger et al. 2016 in ihrer Studie ebenfalls. Bei ihnen lag das mediane Überleben für Patienten mit erhöhten S100-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung bei 9 Monaten und für Patienten mit normwertigen S100-Werten bei 18 Monaten (Frauchiger et al. 2016).

Erhöhte LDH-Werte zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung gingen in unserer Studie mit einem medianen Überleben von 9 Monaten einher. Patienten mit normwertigen LDH-Werten zeigten ein medianes Überleben von 22 Monaten. Frauchiger et al.

untersuchten 2016 ebenfalls den Einfluss von erhöhten LDH-Werten zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung auf das mediane Gesamtüberleben. Auch sie wiesen nach, dass erhöhte LDH-Werte mit einem statistisch signifikanten verkürzten medianen Überleben einhergingen. Es lag für erhöhte LDH-Werte bei 6 Monaten und für normwertige LDH-Werte bei 13 Monaten (Frauchiger et al. 2016).

Zu diesem Ergebnis kamen bereits mehrere Studien in der Vergangenheit (Sirott et al. 1993, Eton et al. 1998).

Auch gering erhöhte LDH-Werte sind in unserer Analyse mit eingegangen. Ihr Einfluss auf das Gesamtüberleben in unserer Patientenkohorte ist kritisch zu bewerten.

## **6.8 VERGLEICH DER LOKALISATION KUTANER MELANOME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

Die BRAF-mutierten Patienten in unserer untersuchten Patientenkohorte zeigten deutlich häufiger kutane Melanome, die am Rumpf lokalisiert sind. Insgesamt wiesen 30 (51 %) BRAF-mutierte Patienten ein kutanes MM am Rumpf auf. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es lediglich 19 Patienten (27 %). Die Untersuchung auf Unterschiede in der Verteilung kutaner Melanome zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten ergab allerdings keine signifikanten Ergebnisse ( $p=0,06$ ). Die von Lee et al. 2011 durchgeführte Metaanalyse untersuchte 19 Studien, die sich mit der Lokalisation von kutanen Melanomen beschäftigten. Sie zeigten ein signifikant häufigeres Auftreten von kutanen Melanomen am Rumpf bei BRAF-mutierten Patienten. Sie zeigten, dass 57 % der kutanen MM, die am Rumpf lokalisiert waren, BRAF-mutiert waren. (Lee et al. 2011). Saint-Jean et al. zeigten in ihrer Studie ebenfalls ein häufigeres Auftreten von BRAF-mutierten kutanen MM am Rumpf. Bei ihnen waren 38 % der BRAF-mutierten MM am Rumpf lokalisiert. In der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten waren es lediglich 18,5 %. Auch sie konnten ebenfalls wie wir kein statistisch signifikantes Level für das häufigere Auftreten BRAF-mutierter MM am Rumpf nachweisen (Saint-Jean et al. 2014).

Die Ergebnisse unserer Studie und die der bereits veröffentlichten Studien zeigen eine Tendenz des häufigeren Auftretens BRAF-mutierter MM am Rumpf. Durch das

Verfehlen statistisch signifikanter Ergebnisse in einigen Studien, sollten zukünftige Studien diesem Zusammenhang weiter nachgehen.

## **6.9 VERGLEICH DER DICKE UND DER INVASIONSTIEFE KUTANER MELANOME IN ABHÄNGIGKEIT VOM BRAF-MUTATIONSSTATUS**

Die Tumordicke nach Breslow wurde ebenfalls von Lee et al. in ihrer Metaanalyse von 2011 auf Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten untersucht. Sie fanden heraus, dass BRAF-Mutationen zu 51 % in dünneren Primärtumoren (Breslow-Level < 1,0mm) auftraten. In Primärtumoren mit einer Tumordicke nach Breslow von > 4,0mm konnten BRAF-Mutationen lediglich 32 % der Fälle nachgewiesen werden. Sie zeigten, dass BRAF-Mutationen signifikant häufiger in Primärtumoren dünnerer Tumordicke auftraten (Lee et al. 2011).

In unserer Studie zeigte sich kein Zusammenhang zwischen dünneren Primärtumoren und BRAF-mutierten Patienten. Tumordicken nach Breslow  $\leq 1,00$ mm traten in 11,9 % der Fälle in der Gruppe der BRAF-mutierten Patienten auf und in 12,9 % der Fälle in der Gruppe der BRAF-Wildtyp Patienten. Dies berichteten auch andere publizierte Studien (Chang et al. 2004, Long et al. 2011).

Die Invasionstiefe nach Clark zeigte in dem von uns beobachteten Patientenkollektiv keine Unterschiede zwischen BRAF-mutierten und BRAF-Wildtyp Patienten. Keine der oben genannten Studien untersuchte die Invasionstiefe nach Clark im Zusammenhang mit dem BRAF-Mutationsstatus der Patienten.

## 7 SCHLUSSFOLGERUNGEN

---

- BRAF-mutierte Patienten sind bei Erstdiagnose des malignen Melanoms signifikant jünger als BRAF-Wildtyp Patienten.
- BRAF-Mutationen treten in dem von uns beobachteten Patientenkollektiv in 42 % der Fälle auf. Davon sind 83 % V600E-Mutationen und 15 % V600K-Mutationen.
- BRAF-mutierte Patienten sind bei Erstmetastasierung (Stadium III und IV) und bei Fernmetastasierung (Stadium IV) signifikant jünger als BRAF-Wildtyp Patienten.
- Die untersuchten Metastasierungszeiträume unterscheiden sich nicht signifikant zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten. Der klinisch gestellte Verdacht der längeren Metastasierungszeiträume für BRAF-mutierte Patienten gegenüber BRAF-Wildtyp Patienten konnte somit widerlegt werden.
- Das Gesamtüberleben wird nicht signifikant vom BRAF-Mutationsstatus der Patienten beeinflusst.
- BRAF-mutierte Patienten sind nicht häufiger von Fernmetastasen betroffen als BRAF-Wildtyp Patienten. Sie weisen allerdings signifikant häufiger Gehirnmetastasen auf als BRAF-Wildtyp Patienten.
- Die medianen S100- und LDH-Werte liegen zum Zeitpunkt der lokoregionären Erstmetastasierung (Stadium III) bei BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp-Patienten im normwertigen Bereich.
- Die medianen S100- und LDH-Werte sind zum Zeitpunkt der ersten Fernmetastasierung (Stadium IV) bei BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp-Patienten erhöht.

- Die S100-Werte BRAF-mutierter Patienten sind zum Zeitpunkt der ersten Fernmetastasierung (Stadium IV) signifikant höher als die der BRAF-Wildtyp Patienten.
- Unabhängig vom BRAF-Mutationsstatus gehen erhöhte S100- und LDH-Werte zum Zeitpunkt der ersten Fernmetastasierung (Stadium IV) mit einem verkürzten Gesamtüberleben einher.
- BRAF-mutierte Melanome sind häufiger am Stamm lokalisiert. Es ließ sich allerdings für unser Patientenkollektiv kein statistisch signifikanter Unterschied für die Lokalisation kutaner Melanome zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp-Patienten nachweisen.
- Die Dicke und die Invasionstiefe kutaner Melanome zeigt keine Unterschiede zwischen BRAF-mutierten Patienten und BRAF-Wildtyp Patienten.
- Abschließend ist festzustellen, dass sich viele klinisch -pathologische Parameter der Patienten in unserem Patientenkollektiv mit der bestehenden Literatur decken. Auch das gehäufte Auftreten von Gehirnmetastasen bei BRAF-mutierten Patienten, das in einigen Studien schon berichtet wurde, konnte in unserer Arbeit bestätigt werden.

## 8 LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS

---

- Adler NR, Wolfe R, Kelly JW, Haydon A, McArthur GA, McLean CA, Mar VJ. 2017. Tumour mutation status and sites of metastasis in patients with cutaneous melanoma. *Br J Cancer*, 117 (7):1026-1035.
- Arkenau HT, Kefford R, Long GV. 2011. Targeting BRAF for patients with melanoma. *Br J Cancer*, 104 (3):392-398.
- Bánfalvi T, Boldizsár M, Gergye M, Gilde K, Kremmer T, Ottó S. 2002. Comparison of prognostic significance of serum 5-S-Cysteinyl-dopa, LDH and S-100B protein in Stage III–IV malignant melanoma. *Pathology & Oncology Research*, 8 (3):183-187.
- Berwick M, Erdei E, Hay J. 2009. Melanoma epidemiology and public health. *Dermatol Clin*, 27 (2):205-214, viii.
- Cao MG, Auge JM, Molina R, Marti R, Carrera C, Castel T, Vilella R, Conill C, Sanchez M, Malveyh J, Puig S. 2007. Melanoma inhibiting activity protein (MIA), beta-2 microglobulin and lactate dehydrogenase (LDH) in metastatic melanoma. *Anticancer Res*, 27 (1b):595-599.
- Carlino MS, Haydu LE, Kakavand H, Menzies AM, Hamilton AL, Yu B, Ng CC, Cooper WA, Thompson JF, Kefford RF, O'Toole SA, Scolyer RA, Long GV. 2014. Correlation of BRAF and NRAS mutation status with outcome, site of distant metastasis and response to chemotherapy in metastatic melanoma. *Br J Cancer*, 111 (2):292-299.
- Chang DZ, Panageas KS, Osman I, Polsky D, Busam K, Chapman PB. 2004. Clinical significance of BRAF mutations in metastatic melanoma. *J Transl Med*, 2 (1):46.
- Cheng S, Chu P, Hinshaw M, Smith K, Maize J, Sferruzza A. 2011. Frequency of mutations associated with targeted therapy in malignant melanoma patients. *Journal of Clinical Oncology*, 29 (15\_suppl):8597-8597.
- Coens C, Khattak A, Carlino MS, Sandhu SK, Larkin J, Puig Sarda S, Ascierto PA, Schadendorf D, Ibrahim N, Suciú S, Robert C, Bottomley A, Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long GV, Atkinson VG, Dalle S, Haydon A, Lichinitser M. 2018. 1278PHealth-related quality-of-life results for pembrolizumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma from the EORTC 1325-MG/Keynote 054 trial: An international randomized double-blind phase III trial. *Annals of Oncology*, 29 (suppl\_8).
- Colombino M, Capone M, Lissia A, Cossu A, Rubino C, De Giorgi V, Massi D, Fonsatti E, Staibano S, Nappi O, Pagani E, Casula M, Manca A, Sini M, Franco R, Botti G, Caraco C, Mozzillo N, Ascierto PA, Palmieri G. 2012. BRAF/NRAS mutation frequencies among primary tumors and metastases in patients with melanoma. *J Clin Oncol*, 30 (20):2522-2529.
- Cosgarea I, Ritter C, Becker JC, Schadendorf D, Ugurel S. 2017. Update zum klinischen Einsatz von Inhibitoren mutierter Phosphokinasen beim Melanom. *J Dtsch Dermatol Ges*, 15 (9):887-894.
- Crocetti E, Mangone L, Lo Scocco G, Carli P. 2006. Prognostic variables and prognostic groups for malignant melanoma. The information from Cox and Classification And Regression Trees analysis: an Italian population-based study. *Melanoma Res*, 16 (5):429-433.
- Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W, Davis N, Dicks E, Ewing R, Floyd Y, Gray K, Hall S, Hawes R, Hughes J, Kosmidou V, Menzies A, Mould C, Parker A, Stevens C, Watt S, Hooper S, Wilson R, Jayatilake H, Gusterson BA, Cooper C, Shipley J, Hargrave D, Pritchard-Jones K, Maitland N, Chenevix-Trench G, Riggins GJ, Bigner DD, Palmieri G, Cossu A, Flanagan A, Nicholson A, Ho JW, Leung SY, Yuen ST, Weber BL, Seigler HF, Darrow TL, Paterson H, Marais R, Marshall CJ, Wooster R, Stratton MR, Futreal PA. 2002. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 417 (6892):949-954.
- Donato R. 2001. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*, 33 (7):637-668.
- Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, Arance A, Mandala M, Lischkay G, Garbe C, Schadendorf D, Krajsova I, Gutzmer R, Chiarion-Sileni V, Dutriaux C, de Groot JWB, Yamazaki N, Loquai C, Moutouh-de

- Parseval LA, Pickard MD, Sandor V, Robert C, Flaherty KT. 2018. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 19 (5):603-615.
- Edlundh-Rose E, Egyhazi S, Omholt K, Mansson-Brahme E, Platz A, Hansson J, Lundeberg J. 2006. NRAS and BRAF mutations in melanoma tumours in relation to clinical characteristics: a study based on mutation screening by pyrosequencing. *Melanoma Res*, 16 (6):471-478.
- Eigentler T, Hoge J, Garbe C, Schadendorf D. 2018. 19.03.2019. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms, Langversion 3.1, 2018,
- Eigentler T, Assi Z, Hassel JC, Heinzerling L, Starz H, Berneburg M, Bauer J, Garbe C. 2016. Which melanoma patient carries a BRAF-mutation? A comparison of predictive models. *Oncotarget*, 7 (24):36130-36137.
- Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, Carneiro A, Nielsen K, Olsson H, Lundgren L, Ingvar C, Jonsson G. 2013. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol*, 169 (5):1049-1055.
- Eton O, Legha SS, Moon TE, Buzaid AC, Papadopoulos NE, Plager C, Burgess AM, Bedikian AY, Ring S, Dong Q, Glassman AB, Balch CM, Benjamin RS. 1998. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. *J Clin Oncol*, 16 (3):1103-1111.
- Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. 2008. The MAPK pathway in melanoma. *Curr Opin Oncol*, 20 (2):183-189.
- Frauchiger AL, Mangana J, Rechsteiner M, Moch H, Seifert B, Braun RP, Dummer R, Goldinger SM. 2016. Prognostic relevance of lactate dehydrogenase and serum S100 levels in stage IV melanoma with known BRAF mutation status. *Br J Dermatol*, 174 (4):823-830.
- Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, Melchi CF. 2005. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer*, 41 (1):45-60.
- Garbe C, Eigentler TK, Keilholz U, Hauschild A, Kirkwood JM. 2011. Systematic review of medical treatment in melanoma: current status and future prospects. *Oncologist*, 16 (1):5-24.
- Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, Lazar AJ, Faries MB, Kirkwood JM, McArthur GA, Haydu LE, Eggermont AMM, Flaherty KT, Balch CM, Thompson JF. 2017. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*, 67 (6):472-492.
- Giehl K. 2005. Oncogenic Ras in tumour progression and metastasis. *Biol Chem*, 386 (3):193-205.
- Gummadi T, Zhang BY, Valpione S, Kim C, Kottschade LA, Mittapalli RK, Chiarion-Sileni V, Pigozzo J, Elmquist WF, Dudek AZ. 2015. Impact of BRAF mutation and BRAF inhibition on melanoma brain metastases. *Melanoma Res*, 25 (1):75-79.
- Hauschild A, Dummer R, Schadendorf D, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, Chiarion-Sileni V, Larkin J, Nyakas M, Dutriaux C, Haydon A, Robert C, Mortier L, Schachter J, Lesimple T, Plummer R, Dasgupta K, Haas T, Shilkrut M, Gasal E, Kefford R, Kirkwood JM, Long GV. 2018. Longer Follow-Up Confirms Relapse-Free Survival Benefit With Adjuvant Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With Resected BRAF V600-Mutant Stage III Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 36 (35):3441-3449.
- Henderson MA, Burmeister BH, Ainslie J, Fisher R, Di Iulio J, Smithers BM, Hong A, Shannon K, Scolyer RA, Carruthers S, Coventry BJ, Babington S, Duprat J, Hoekstra HJ, Thompson JF. 2015. Adjuvant lymph-node field radiotherapy versus observation only in patients with melanoma at high risk of further lymph-node field relapse after lymphadenectomy (ANZMTG 01.02/TROG 02.01): 6-year follow-up of a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 16 (9):1049-1060.
- Henze G, Dummer R, Joller-Jemelka HI, Boni R, Burg G. 1997. Serum S100--a marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology*, 194 (3):208-212.
- Hill GJ, 2nd, Moss SE, Golomb FM, Grage TB, Fletcher WS, Minton JP, Kremenetz ET. 1981. DTIC and combination therapy for melanoma: III. DTIC (NSC 45388) Surgical Adjuvant Study COG PROTOCOL 7040. *Cancer*, 47 (11):2556-2562.

- Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Cowey CL, Lao CD, Schadendorf D, Wagstaff J, Dummer R, Ferrucci PF, Smylie M, Hill A, Hogg D, Marquez-Rodas I, Jiang J, Rizzo J, Larkin J, Wolchok JD. 2018. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 19 (11):1480-1492.
- Jakob JA, Bassett RL, Jr., Ng CS, Curry JL, Joseph RW, Alvarado GC, Rohlfs ML, Richard J, Gershenwald JE, Kim KB, Lazar AJ, Hwu P, Davies MA. 2012. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer*, 118 (16):4014-4023.
- Jiang AJ, Rambhatla PV, Eide MJ. 2015. Socioeconomic and lifestyle factors and melanoma: a systematic review. *Br J Dermatol*, 172 (4):885-915.
- Kaatsch P, al. e Krebs in Deutschland für 2013/2014
- Kenady DE, Brown BW, McBride CM. 1982. Excision of underlying fascia with a primary malignant melanoma: effect on recurrence and survival rates. *Surgery*, 92 (4):615-618.
- Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. 2002. Diagnostic accuracy of dermoscopy. *Lancet Oncol*, 3 (3):159-165.
- Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, Mandalà M, Demidov L, Stroyakovskiy D, Thomas L, de la Cruz-Merino L, Dutriaux C, Garbe C, Sovak MA, Chang I, Choong N, Hack SP, McArthur GA, Ribas A. 2014. Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 371 (20):1867-1876.
- Lee JH, Choi JW, Kim YS. 2011. Frequencies of BRAF and NRAS mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol*, 164 (4):776-784.
- Liu W, Kelly JW, Trivett M, Murray WK, Dowling JP, Wolfe R, Mason G, Magee J, Angel C, Dobrovic A, McArthur GA. 2007. Distinct clinical and pathological features are associated with the BRAF(T1799A(V600E)) mutation in primary melanoma. *J Invest Dermatol*, 127 (4):900-905.
- Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF. 2011. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol*, 29 (10):1239-1246.
- Long GV, Hauschild A, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, Chiarion-Sileni V, Larkin J, Nyakas M, Dutriaux C, Haydon A, Robert C, Mortier L, Schachter J, Schadendorf D, Lesimple T, Plummer R, Ji R, Zhang P, Mookerjee B, Legos J, Kefford R, Dummer R, Kirkwood JM. 2017. Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF-Mutated Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 377 (19):1813-1823.
- Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, Garbe C, Jouary T, Hauschild A, Grob JJ, Chiarion-Sileni V, Lebbe C, Mandala M, Millward M, Arance A, Bondarenko I, Haanen JB, Hansson J, Utikal J, Ferraresi V, Kovalenko N, Mohr P, Probstachai V, Schadendorf D, Nathan P, Robert C, Ribas A, DeMarini DJ, Irani JG, Swann S, Legos JJ, Jin F, Mookerjee B, Flaherty K. 2015. Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: a multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*, 386 (9992):444-451.
- Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC. 2003. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst*, 95 (24):1878-1890.
- Mastorakos P, Xu Z, Yu J, Hess J, Qian J, Chatrath A, Taylor DG, Kondziolka D, Warnick R, Chiang V, Sheehan J. 2018. BRAF V600 Mutation and BRAF Kinase Inhibitors in Conjunction With Stereotactic Radiosurgery for Intracranial Melanoma Metastases: A Multicenter Retrospective Study. *Neurosurgery*.
- Matthews N, Li W, Qureshi A, al. e. 2017. *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy*. Codon Publications.
- Maxwell R, Garzon-Muvdi T, Lipson EJ, Sharfman WH, Bettegowda C, Redmond KJ, Kleinberg LR, Ye X, Lim M. 2017. BRAF-V600 mutational status affects recurrence patterns of melanoma brain metastasis. *Int J Cancer*, 140 (12):2716-2727.

- Menzies AM, Haydu LE, Visintin L, Carlino MS, Howle JR, Thompson JF, Kefford RF, Scolyer RA, Long GV. 2012. Distinguishing clinicopathologic features of patients with V600E and V600K BRAF-mutant metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 18 (12):3242-3249.
- Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, Fierlbeck G, Tilgen W, Seiter S, Gore M, Aamdal S, Cebon J, Coates A, Dreno B, Henz M, Schadendorf D, Kapp A, Weiss J, Fraass U, Statkevich P, Muller M, Thatcher N. 2000. Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol*, 18 (1):158-166.
- Moreau S, Saiag P, Aegerter P, Bosset D, Longvert C, Helias-Rodzewicz Z, Marin C, Peschard F, Chagnon S, Zimmermann U, Clerici T, Emile JF. 2012. Prognostic value of BRAF(V(6)(0)(0)) mutations in melanoma patients after resection of metastatic lymph nodes. *Ann Surg Oncol*, 19 (13):4314-4321.
- Platz A, Egyhazi S, Ringborg U, Hansson J. 2008. Human cutaneous melanoma; a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Molecular Oncology*, 1 (4):395-405.
- Raaijmakers MI, Widmer DS, Narechania A, Eichhoff O, Freiburger SN, Wenzina J, Cheng PF, Mihic-Probst D, Desalle R, Dummer R, Levesque MP. 2016. Co-existence of BRAF and NRAS driver mutations in the same melanoma cells results in heterogeneity of targeted therapy resistance. *Oncotarget*, 7 (47):77163-77174.
- Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, Lichinitser M, Dummer R, Grange F, Mortier L, Chiarion-Sileni V, Drucis K, Krajsova I, Hauschild A, Lorigan P, Wolter P, Long GV, Flaherty K, Nathan P, Ribas A, Martin A-M, Sun P, Crist W, Legos J, Rubin SD, Little SM, Schadendorf D. 2015. Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib. *New England Journal of Medicine*, 372 (1):30-39.
- Roesch A, Berking C. 2018. "Melanom" in Braun-Falco's *Dermatologie, Venerologie und Allergologie*.
- Roskoski R, Jr. 2010. RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 399 (3):313-317.
- Saint-Jean M, Quereux G, Nguyen JM, Peuvrel L, Brocard A, Vallee A, Knol AC, Khammari A, Denis MG, Dreno B. 2014. Younger age at the time of first metastasis in BRAF-mutated compared to BRAF wild-type melanoma patients. *Oncol Rep*, 32 (2):808-814.
- Schachter J, Ribas A, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, Daud A, Carlino MS, McNeil C, Lotem M, Larkin J, Lorigan P, Neyns B, Blank C, Petrella TM, Hamid O, Zhou H, Ebbinghaus S, Ibrahim N, Robert C. 2017. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *Lancet*, 390 (10105):1853-1862.
- Schadendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, Stang A, Roesch A, Ugurel S. 2018. Melanoma. *Lancet*, 392 (10151):971-984.
- Schlaak M, Bajaj A, Podewski T, Kreuzberg N, von Bartenwerffer W, Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S, Buttner R, Mauch C, Kurschat P. 2013. Assessment of clinical parameters associated with mutational status in metastatic malignant melanoma: a single-centre investigation of 141 patients. *Br J Dermatol*, 168 (4):708-716.
- Sekulic A, Haluska P, Jr., Miller AJ, Genebriera De Lamo J, Ejadi S, Pulido JS, Salomao DR, Thorland EC, Vile RG, Swanson DL, Pockaj BA, Laman SD, Pittelkow MR, Markovic SN, Melanoma Study Group of Mayo Clinic Cancer C. 2008. Malignant melanoma in the 21st century: the emerging molecular landscape. *Mayo Clin Proc*, 83 (7):825-846.
- Sirott MN, Bajorin DF, Wong GY, Tao Y, Chapman PB, Templeton MA, Houghton AN. 1993. Prognostic factors in patients with metastatic malignant melanoma. A multivariate analysis. *Cancer*, 72 (10):3091-3098.
- Sladden MJ, Balch C, Barzilai DA, Berg D, Freiman A, Handiside T, Hollis S, Lens MB, Thompson JF. 2009. Surgical excision margins for primary cutaneous melanoma. *Cochrane Database Syst Rev*, (4):Cd004835.
- Titus L. 2013. Skin self-examination and the ABCDE rule in the early diagnosis of melanoma: is the game over? Reply from author. *Br J Dermatol*, 168 (6):1371-1372.

- Tronnier M, Garbe C, Bröcker E-B, Stadler R, Steinkraus V, Soyer HP, Wolff HH. 1997. Standards der histo- pathologischen Diagnose maligner MelanomeEmpfehlungen der Arbeitsgruppe des Zentralregisters Malignes Melanom der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. *Der Hautarzt*, 48 (10):720-729.
- Veronesi U, Adamus J, Aubert C, Bajetta E, Beretta G, Bonadonna G, Bufalino R, Cascinelli N, Cocconi G, Durand J, De Marsillac J, Ikonopisov RL, Kiss B, Lejeune F, MacKie R, Madej G, Mulder H, Mechl Z, Milton GW, Morabito A, Peter H, Priario J, Paul E, Rumke P, Sertoli R, Tomini R. 1982. A randomized trial of adjuvant chemotherapy and immunotherapy in cutaneous melanoma. *N Engl J Med*, 307 (15):913-916.
- Wagner JD, Gordon MS, Chuang TY, Coleman JJ, 3rd, Hayes JT, Jung SH, Love C. 2000. Predicting sentinel and residual lymph node basin disease after sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Cancer*, 89 (2):453-462.
- Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, Jones CM, Marshall CJ, Springer CJ, Barford D, Marais R. 2004. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*, 116 (6):855-867.
- Weber J, Mandala M, Del Vecchio M, Gogas HJ, Arance AM, Cowey CL, Dalle S, Schenker M, Chiarion-Sileni V, Marquez-Rodas I, Grob J-J, Butler MO, Middleton MR, Maio M, Atkinson V, Queirolo P, Gonzalez R, Kudchadkar RR, Smylie M, Meyer N, Mortier L, Atkins MB, Long GV, Bhatia S, Lebbé C, Rutkowski P, Yokota K, Yamazaki N, Kim TM, de Pril V, Sabater J, Qureshi A, Larkin J, Ascierto PA. 2017. Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 377 (19):1824-1835.
- Weide B, Elsasser M, Buttner P, Pflugfelder A, Leiter U, Eigentler TK, Bauer J, Witte M, Meier F, Garbe C. 2012. Serum markers lactate dehydrogenase and S100B predict independently disease outcome in melanoma patients with distant metastasis. *Br J Cancer*, 107 (3):422-428.
- Wevers K, Kruijff S, Speijers M, Bastiaannet E, Muller Kobold A, Hoekstra H. 2013. S-100B: a stronger prognostic biomarker than LDH in stage IIIB-C melanoma.
- Xing Y, Bronstein Y, Ross MI, Askew RL, Lee JE, Gershenwald JE, Royal R, Cormier JN. 2011. Contemporary diagnostic imaging modalities for the staging and surveillance of melanoma patients: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 103 (2):129-142.
- Yu H, McDaid R, Lee J, Possik P, Li L, Kumar SM, Elder DE, Van Belle P, Gimotty P, Guerra M, Hammond R, Nathanson KL, Dalla Palma M, Herlyn M, Xu X. 2009. The role of BRAF mutation and p53 inactivation during transformation of a subpopulation of primary human melanocytes. *Am J Pathol*, 174 (6):2367-2377.

## 9 ANHANG

---

### 9.1 EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. rer. nat. et med. habil. Uta-Christina Hipler, Dr. med. Steven Goetze (beide Klinik für Dermatologie und klinische Allergologie), Univ.-Prof. Dr. med. habil., M.Sc. Applied Statistics Peter Schlattmann (Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation ),

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers

## 9.2 DANKSAGUNG

Mein größter Dank gilt Frau PD Dr. rer. nat. et med. habil. Uta-Christina Hipler für die Überlassung des interessanten Themas und der ausgesprochen guten, stets mit enger Zusammenarbeit verbundenen wissenschaftlichen Betreuung.

Ein ebenfalls sehr großer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. Steven Goetze. Ich möchte ihm für seine herausragende Betreuung danken. Er war während der gesamten Anfertigung meiner Dissertation ein immer verfügbarer Ansprechpartner und hat mir mit seinen Ratschlägen jederzeit weiterhelfen können. Seine freundliche und positive Art sowie die Begeisterung für seinen Beruf haben mich sehr beeindruckt und stets motiviert.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. habil., M.Sc. Applied Statistics Peter Schlattmann, der mir bei Fragen zur statistischen Auswertung ein sehr kompetenter und hilfreicher Ansprechpartner war.

Meinen Freunden möchte ich ebenfalls für ihre Unterstützung danken. Sie sorgten mit Unterhaltung und Aktivitäten für die nötige Abwechslung, die mir immer wieder neue Energie und Motivation gegeben hat.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie. Ich möchte meinen Eltern danken für das Ermöglichen meines Studiums und der stetigen Unterstützung während dieser Zeit. Durch ihre liebevolle Erziehung verspüre ich stets einen Ort der Geborgenheit und Sicherheit, der mir auch während der Erstellung dieser Arbeit viel Kraft gegeben hat. Ebenfalls möchte ich meinen beiden älteren Geschwistern danken. Ich bin sehr dankbar für unsere tolle, freundschaftliche Beziehung und eure Hilfe, die mir nicht nur im Hinblick auf diese Arbeit, sondern in allen Lebensbereichen stets geholfen hat.

Meiner Familie widme ich diese Arbeit.