Aus der Klinik für
Dermatologie und Venerologie
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. D. Zillikens

Wertigkeit von Proliferationsraten in der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides“ Melanom

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von

Christian Hartwig Mensing

aus Hamburg

Lübeck 2004

INHALTSVERZEICHNIS

1.	**EINLEITUNG**	4
2.	**MATERIAL UND METHODEN**	19
2.1	Auswahl der histologischen Präparate	19
2.2	Aufarbeitung der histologischen Präparate	20
2.3	Laborgeräte	21
2.4	Puffer und Substratlösungen	21
2.5	Antikörper	24
2.6	Methoden	25
2.6.1	APAAP (Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase)-technik	25
2.6.2	Immunhistochemische Doppelfärbung mit den Markern Vimentin, Klon V9, und Ki-67, Klon MIB-I, in ABC- und APAAP-Technik	29
2.7	Kontrollen	33
2.8	Auswertung der Präparate	34
2.8.1	Erhebung des immunhistologischen Befundes	34
2.9	Verarbeitung der Daten	37
3.	**ERGEBNISSE**	38
3.1	Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten von Naevus Spitz, „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	38
3.1.1	Naevus Spitz vom junktionalen Typ	39
3.1.2	Naevus Spitz vom Compound-Typ	40
3.1.3	„Spitzoides“ malignes Melanom	42
3.1.4	Malignes Melanom	43
3.2	Vergleich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten von Naevus Spitz, „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	44
3.2.1	Durchschnittliche Proliferationsraten	44
3.2.1.1	Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom	45
3.2.1.2	Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom	45
3.2.1.3	Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	45
3.2.2	Maximale Proliferationsraten	47

3.2.2.1	Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom	47
3.2.2.2	Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom	48
3.2.2.3	Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	48
3.2.3	Minimale Proliferationsrate	50
3.2.3.1	Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom	50
3.2.3.2	Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom	51
3.2.3.3	Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	51
3.2.4	Zusammenfassung der Vergleiche	52
3.2.5	Tests	53
3.2.5.1	Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom	53
3.2.5.2	Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom	53
3.2.5.3	Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom	54
3.3	Proliferationsraten in den Bereichen zentral-tief, zentral-oberflächlich und peripher für Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom	54
3.3.1	Naevus Spitz vom junktionalen Typ	55
3.3.2	Naevus Spitz vom Compound-Typ	56
3.3.3	„Spitzoides“ malignes Melanom	57
3.3.4	Malignes Melanom	58
3.4	Vergleich der drei Bereiche zentral-tief, zentral-oberflächlich und peripher	59
3.5	Korrelationsanalysen	60
3.5.1	Korrelation durchschnittlicher Proliferationsraten mit der Tumordicke nach Breslow (mm)	60
3.5.1.1	Naevus Spitz	61
3.5.1.2	„Spitzoides“ malignes Melanom	61
3.5.1.3	Malignes Melanom	61
3.5.2	Korrelation durchschnittlicher Proliferationsraten, geschichtet nach den Bereichen zentral-tief, zentral-oberflächlich und peripher, mit der Tumordicke nach Breslow (mm)	62
3.5.2.1	Naevus Spitz	62
3.5.2.2	„Spitzoides“ malignes Melanom	62
3.5.2.3	Malignes Melanom	63
3.6	Altersabhängigkeit	64
3.6.1	Altersverteilung der untersuchten Tumoren für ihre entsprechende Entität	64
3.6.1.1	Naevus Spitz	64

3.6.1.2 „Spitzoides“ malignes Melanom 64
3.6.1.3 Malignes Melanom 64
3.6.2 Vergleich der Altersverteilung der untersuchten Tumoren 65
3.6.2.1 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom 66
3.6.2.2 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom 66
3.6.2.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom 67
3.6.2.4 Zusammenfassung der Vergleiche 67
3.6.3 Kovarianzanalysen (ANCOVA) 68

4. DISKUSSION 69

5. ZUSAMMENFASSUNG 79

6. LITERATURVERZEICHNIS 80

7. ANHANG 86

7.1 Histologischer Begutachtungsbogen 86

7.2 Histologische Bilder: HE und MIB-I/Vimentin Doppelfärbung 88

8. DANKSAGUNG 99

9. CURRICULUM VITAE 100

1. Einleitung

Die *Inzidenz* des malignen Melanoms ist weltweit in den letzten 30 Jahren stark gestiegen. Insbesondere in Ländern, deren Bevölkerung europäischen Ursprungs (kaukasischer Hauttyp) ist, stellt diese Erkrankung ein wichtiges Gesundheitsproblem dar. In einigen Ländern verdoppelt sich die Inzidenz alle 10-15 Jahre, wobei das maligne Melanom insgesamt die schnellste Zunahme aller malignen Tumoren, nach dem Lungen- und dem Brustkrebs bei der Frau, besitzt.

In den USA wurde das Risiko für einen Menschen, während seines Lebens an einem malignem Melanom zu erkranken, für das Jahr 2000 auf 1/75 geschätzt [Rigel et al., 1996], während in einigen Regionen Australiens und Neuseelands jährlich 50 neue Fälle von Melanomen auf 100000 Einwohner kommen [Diepgen und Mahler, 2002].

Einer der bedeutensten Aspekte bei der Betrachtung dieses Trends ist die Tatsache, dass zunehmend relativ junge Erwachsene an einem malignen Melanom erkranken. Das mittlere Lebensalter eines heute an einem malignen Melanom erkrankten Patienten liegt im Bereich von 50 Jahren und ist damit im Vergleich zum Manifestationsalter anderer maligner Tumore relativ niedrig.

Die *Mortalitätsrate* für das maligne Melanom bei Fauen ist in den letzten Jahren gefallen, während sie für die Männer weiterhin steigt. Die Abnahme der Mortalitätsrate wird mit der gesteigerten sekundären Prävention und der damit verbundenen früheren Diagnose des Tumors erklärt, der heute schon bei relativ geringer Tumordicke erkannt werden kann [Kölmel et al., 2001].

Die *klinische Differentialdiagnose* melanozytärer Hauttumoren stellt auch für den erfahrenen Dermatologen oftmals ein schwieriges Problem dar. Über 70 gut- und bösartige Hauttumoren können klinisch-makroskopisch eine Ähnlichkeit mit dem malignem Melanom zeigen, so dass die überaus wichtige Frage nach der Dignität eines Tumors in Grenzfällen klinisch auch bei Einsatz zusätzlicher technischer Methoden wie zum Beispiel Auflichtmikroskopie oder Sonographie nicht sicher geklärt werden kann [Pizzichetta et al., 2002; Argenziano et al., 1999].

Die endgültige Diagnose und Dignitätsbestimmung einer melanozytären Läsion erfordert somit die Exzision und zwingend eine anschließende histologische Untersuchung, die nach wie vor den Goldstandard in der Diagnostik darstellt.

Aber selbst dabei ergeben sich in der Differentialdiagnose Schwierigkeiten, da auch die histologische Untersuchung nicht immer eindeutig benigne melanozytäre Tumoren bzw.

Naevi vom malignen Melanom unterscheiden läßt. Selbst unter Experten der Dermatohistopathologie wird oft keine Übereinstimmung in der Diagnose erreicht [Farmer et al., 1996; Ackerman, 1996].

Auch durch eingeführte Untersuchungen mit melanozytenspezifischen Antikörpern gegen S-100 Protein, HMB 45, Melan-A oder Tumorsupressorgene wie p53 und anderen Agenzien im Rahmen der Immunhistochemie konnte bisher keine signifikante Verbesserung bei der Dignitätsbestimmung erreicht werden [Kahn et al., 1984; Gown et al., 1986; Colombari et al., 1988; Ruiter und Bröcker, 1994].

Aus diesem Grunde besteht auch im Rahmen der Histologie weiterhin der Bedarf an diagnostischen Hilfsmitteln, die durch höhere Sensitivität und Spezifität eine bessere, möglichst eindeutige Dignitätsbestimmung des melanozytären Tumors ermöglichen.

Dies wird illustriert durch eine statistische Auswertung von Konsilanfragen aus den Monaten 9/1999-9/2000, die von Pathologen und Dermatohistopathologen aus ganz Deutschland an die Klinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen Universität zu Lübeck zur Mitbegutachtung geschickt wurden: Hierbei wurde insbesondere eine Stellungnahme zur Diagnose melanozytärer Tumoren erbeten, wobei die Differentialdiagnose benigner Naevus vs. malignes Melanom im Vordergrund stand. Offensichtlich bereitete hierbei der Naevus Spitz differentialdiagnostisch die grössten Schwierigkeiten. Die Differenzen in der Beurteilung bezüglich der Dignität waren bei keiner anderen Differentialdiagnose der melanozytären Tumore derart groß (Tabelle 1.1 und 1.2 auf Seite 6).

Aus diesem Grund beschäftigt sich diese Arbeit mit der histologischen Differentialdiagnose zwischen dem benignen melanozytären Tumor Naevus Spitz und dem malignem Melanom.

Gesamtzahl:	447
Davon:	
Melanozytäre Tumoren/Naevi	349
Sonstige Tumoren	54
Entzündliche Dermatosen	44

Tabelle 1.1.: Konsiliaruntersuchungen der Medizinischen Universität zu Lübeck im Zeitraum 9/1999 – 9/2000

Naevus Spitz vs. malignes Melanom	80
Dysplastischer Naevus vs. malignes Melanom	50
Naevus vs. malignes Melanom	70

Tabelle 1.2.: Häufigste Differentialdiagnosen der Konsiliaruntersuchungen

Benigne Tumoren sind definiert als lokalisierte Proliferation von Zellen eines Typs, die einen Grad kontrollierten autonomen Wachstums bei normaler Differenzierung besitzen. Benigne Tumoren, die mehr als nur einen Zelltyp aufweisen, werden unter dem Oberbegriff Hamartome zusammengefaßt [MacKie, 1998].

Näher definiert wird unter einem Hamartom die geschwulstähnliche Fehlbildung eines Organs bzw. Organsystems infolge einer fehlerhaften Differenzierung und Hyperplasie ortsständigen Keimmaterials verstanden. Klassische kongenitale Nävi entsprechen dieser Definition; sie zeigen neben der Vermehrung von Melanozyten meist auch Hyperplasie der Epidermis und Vermehrung sowie Hyperplasie von Hautadnexen, insbesondere der Haarfollikel. Hamartome zeigen primär keine Wachstumsautonomie. In ihnen, wie zum Beispiel beim kongenitalen Naevus, können herdförmig jedoch auch maligne Tumore auftreten.

Die melanozytären Tumoren/Naevi können daher interpretiert werden:

- als Hamartome: klassische kongenitale Nävi
- als benigne Tumoren der Melanozyten: erworbene melanozytäre Naevi
- als maligne Tumoren der Melanozyten: maligne Melanome

Es gibt beträchtliche Variationen in Art und Anzahl melanozytärer Naevi zwischen einzelnen Menschen. Die Mehrzahl dieser Naevi tritt nach der Geburt auf, wobei eine große Anzahl von Naevi außer mit der genetischen Disposition beziehungsweise dem Hauttyp, mit der Sonnenexposition während der Kindheit und hormonellen Einflüssen in der Pubertät assoziiert wird [Tronnier, 1996; Goldman und Richfield, 1951]. Das Auftreten von melanozytären Naevi variiert mit dem Alter [Maize und Foster, 1979]. Bei Neugeborenen sind sie selten, sie entwickeln sich zunehmend während der Kindheit und Pubertät [Lund und Stobbe, 1949]. Im mittleren Erwachsenenalter stellt sich ein Plateau ein, während alte Menschen immer weniger neue Naevi bekommen und es zu Rückbildungen kommt [Shelly, 1960; Nicholls, 1973].
Histopathologisch werden melanozytäre Naevi in drei Gruppen eingeteilt. Beim Junktionstyp befinden sich die Nester der Melanozyten in der Basalzellschicht beziehungsweise in der dermoepidermalen Junktionszone der Haut. Die Nester beim melanozytären Naevus vom Compoundtyp kommen in der Junktionszone der Epidermis und im Korium vor. Der dermale Typ ist durch ausschließlich im Korium liegende melanozytäre Nester charakterisiert.

Bei dem in dieser Arbeit interessierenden Naevus Spitz handelt es sich um eine besondere Art eines melanozytären Nävus, der seit seiner Erstbeschreibung als „juveniles Melanom“ vor über 50 Jahren [Spitz, 1948] weiterhin zur „Überdiagnostizierung“ von Melanomen führt und eine zentrale Rolle bei der histologischen Differentialdiagnose zum malignen Melanom nicht nur in der Kindheit spielt.
Bereits 1910 hatten die französischen Dermatologen Civatte und Darier einen knotigen, roten, schnell wachsenden Tumor auf der Nase eines achtjährigen Jungen beschrieben.
Histologisch war der Tumor durch fusiform angeordnete „Naevuszellen“ charakterisiert [Darier und Civatte, 1910]. Beide waren nicht in der Lage, eine Entscheidung zu treffen, ob dieser Tumor nun ein Nävus oder ein malignes Melanom war. Zu dieser Zeit wurde ein solcher Tumor immer als malignes Melanom eingeordnet. Es wurde jedoch mit der Zeit offensichtlich, dass melanozytäre Läsionen bei Kindern mit dem gleichen histologischen

Erscheinungsbild wie maligne Melanome bei Erwachsenen, ein völlig anderes, benignes biologisches Verhalten zeigten. Einziges Unterscheidungskriterium war das Alter des Patienten, was Pack und Anglem 1939 dazu veranlasste, ein Konzept von präpubertalem und postpubertalem Melanom zu entwickeln [Pack und Anglem, 1939]. Alle Pigmentmale wurden zu dieser Zeit schon im jugendlichen Alter entfernt, um einer möglichen malignen Entartung im Erwachsenenalter vorzubeugen.

1948 war es dann Sophie Spitz, die als erste eine vergleichende Studie aufbaute, um ein morphologisches Kriterium zu finden, welches zwischen dem malignem Melanom im Kindesalter und dem malignen Melanom im Erwachsenenalter histologisch unterscheiden kann. In der Originalpublikation im American Journal of Pathology mit dem Titel „Melanomas in Childhood“ beschrieb Sophie Spitz mehrere histologische Charakteristika der Läsionen, die sie *juvenile Melanome* nannte [Spitz, 1948]. Einziges histologisches Unterscheidungsmerkmal zum malignen Melanom des Erwachsenen war für Sophie Spitz nur die Präsenz von Riesenzellen in juvenilen Melanomen. Zu diesem Zeitpunkt war Spitz weiterhin von der Malignität der *juvenilen Melanome* überzeugt und begründete den benignen Verlauf mit einem geschlechtsgebundenem hormonellen Effekt.

1949 ordnete Allen, der Ehemann und Mitarbeiter von Sophie Spitz, juvenile Melanome in die Kategorie benigner melanozytärer Läsionen ein, da sie vor der Pubertät auftraten und sich aufgrund ihres gutartigen Verlaufs nicht wie maligne Melanome verhielten [Allen, 1949].

Weiterhin wurde jedoch geglaubt, dass juvenile Melanome nur vor der Pubertät auftreten und histologisch gleichartige Läsionen im Erwachsenenalter einem malignem Melanom entsprächen.

1953 wurde erstmals das Auftreten eines juvenilen Melanoms im Erwachsenealter beschrieben [Allen und Spitz, 1953], woraus beide Autoren schlossen, dass das Alter nicht für die Dignitätsbestimmung des Tumors ausschlaggebend sein durfte. Sie fanden neue histologische Charakteristika wie zum Beispiel (1) Ödem und Teleangiektasien, (2) scharfe Begrenzung des Tumors, (3) geringe Pigmentierung, (4) geringe Eindringtiefe des Tumors, (4) große Zellen mit basophilem, myogen erscheinendem Zytoplasma und (5) oberflächliche Riesenzellen, um zwischen benignen juvenilen Melanomen und Melanomen bei Erwachsenen zu unterscheiden [Allen und Spitz, 1953]. Dennoch gab es weiterhin benigne juvenile Melanome, die nicht vom Melanom des Erwachsenen unterschieden werden konnten. Dies war der Anstoß für viele Forschungsarbeiten, den diagnostischen Schlüssel in dieser Fragestellung zu finden.

McWorther und Woolner schlugen 1954 vor, benigne juvenile Melanome in 1. Epitheloid-zell-Typ und 2. Spindellzell-Typ zu unterteilen, da sich die Tumore aus diesen Zelltypen zusammensetzten. Ebenfalls beschrieben sie zwei weitere Charakteristika: Maturation der Zellen und superfizielle Mitosen, mit denen benigne juvenile Melanome von malignen Melanomen unterschieden werden konnten [McWorther und Woolner, 1954].

Im gleichen Jahr wurden benigne juvenile Melanome von Hellwig erstmals als „spindle cell nevus“ bezeichnet [Hellwig, 1954]. Kernen und Ackerman übernahmen den von Hellwig vorgeschlagenen Namen und reklassifizierten 1960 27 juvenile Melanome in „spindle cell nevi“ und „epithelioid cell nevi“ [Kernen und Ackerman, 1960].

1967 wurde dann vom Komitee des Queensland Melanoma Projekts eine standardisierte Nomenklatur und Klassifikation für Muttermale und Melanome vorgelegt, in der für benigne juvenile Melanome erstmals der Name „Naevus Spitz“ verwendet wurde [McGovern et al., 1967].

Heute wird dieser melanozytäre Tumor aufgrund seiner benignen Dignität als Spindel-zellnaevus Spitz oder Naevus Spitz bezeichnet. Er stellt eine Variante des Compound Naevus dar, der histologisch einem malignem Melanom äußerst ähnlich sieht [MacKie et al., 1998].

Es hat sich mittlerweile gezeigt, dass Naevi Spitz in allen Altersschichten vorkommen können. Wegen der schon von Sophie Spitz beschriebenen zytologischen Variabilität der melanozytären Zellen ist der Naevus Spitz sicher histologisch eine der schwierigsten Differentialdiagnosen zum malignen Melanom. Die korrekte Differentialdiagnose ist aber von größter Bedeutung, da ein völlig gegensätzliches biologisches Potential und somit prognostische Erwartungen von absolut benigne (N.Spitz) bis hin zu hochmalignen, mit möglicher Todesfolge (malignes Melanom) besteht.

Die bevorzugte Lokalisation des Naevus Spitz sind das Gesicht und die Extremitäten. Mit zunächst oft raschem Wachstum entwickelt sich in Wochen bis Monaten ein meist nur erbsgroßes Knötchen, das dann in seiner Größe über Jahre bestehen bleibt.

Die klinische Differentialdiagnose eines Naevus Spitz ist umfangreich und umfasst zum Beispiel ein juveniles Xanthogranulom, Histiozytom, Granuloma pyogenicum oder ein Leiomyom. Ein amelanotisches Melanom muß allerdings auch in Betracht gezogen werden (siehe Abb. 1.1-1.6 auf Seite 10).

Abb. 1.1: Histiozytom

Abb. 1.2: Naevus Spitz

Abb. 1.3: Amelanotisches Melanom

Abb. 1.4: Granuloma pyogenicum

Abb. 1.5: Juveniles Xanthogranulom

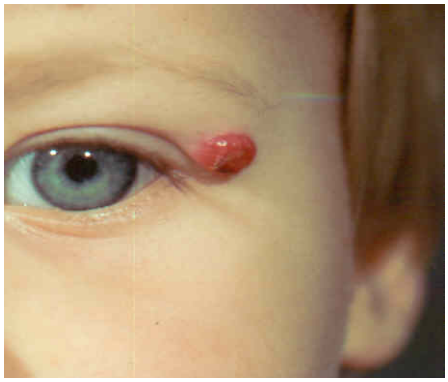


Abb.1.6: Leiomyosarkom

Abb. 1.1-1.6: Klinische Differentialdiagnosen des Naevus Spitz (Beispiele)

Die Abtrennung vom malignen Melanom ist dennoch eher ein histopathologisches als klinisches Problem. Histopathologisch unterscheidet man Naevi Spitz vom junktionalen, Compound und dermalen Typ. Die Unterscheidung erfolgt nach der Lokalisation der nävoiden Zellen in den verschiedenen Hautschichten. Melanozyten rein intraepidermal beschreiben den junktionalen Typ. Melanozyten sowohl intraepidermal als auch dermal beschreiben den Compound Typ, währenddessen Melanozyten rein dermal lokalisiert den dermalen Typ beschreiben.

Naevi Spitz unterscheiden sich von anderen Typen erworbener Naevi in mehreren Punkten. Die typischen architektonischen Merkmale von Naevi Spitz sind (1) Symmetrie des Tumors, (2) scharfe seitliche Begrenzung, (3) kompakte Orthokeratose, (4) Hypergranulose, (5) unregelmäßige epidermale Hyperplasie, (6) Spaltbildung zwischen elongierten Melanozytennestern und umgebenden Keratinozyten sowie -weniger konstant- (7) ein Ödem in der oberen Dermis, (8) Teleangiektasien und (9) ein relativ dichtes perivaskuläres Infiltrat aus Lymphozyten.

Zytologisch typische Merkmale sind vergrößerte Melanozyten mit großen Zellkernen und reichlich umgebenem Zytoplasma, die in auffällig wiederholten ovalen, runden und polygonalen Formen auftreten. Ein häufiges Vorkommen mehrkerniger Melanozyten ist ebenfalls beschrieben. Charakteristisch sind fischzugartige Wirbel von Spindelzellen und eine meist relativ geringe Pigmentbildung. Die Zellen können jedoch auch epitheloide Formen besitzen (siehe Abbildung 2 und 2.1). In ungefähr 70% aller Naevi Spitz vom junktionalen und Compound Typ findet man in der Epidermis plumpe homogen eosinophile Globuli, die nach ihrer Erstbeschreiberin, Hideko Kamino, Kamino-bodies genannt werden [Kamino et al., 1979].

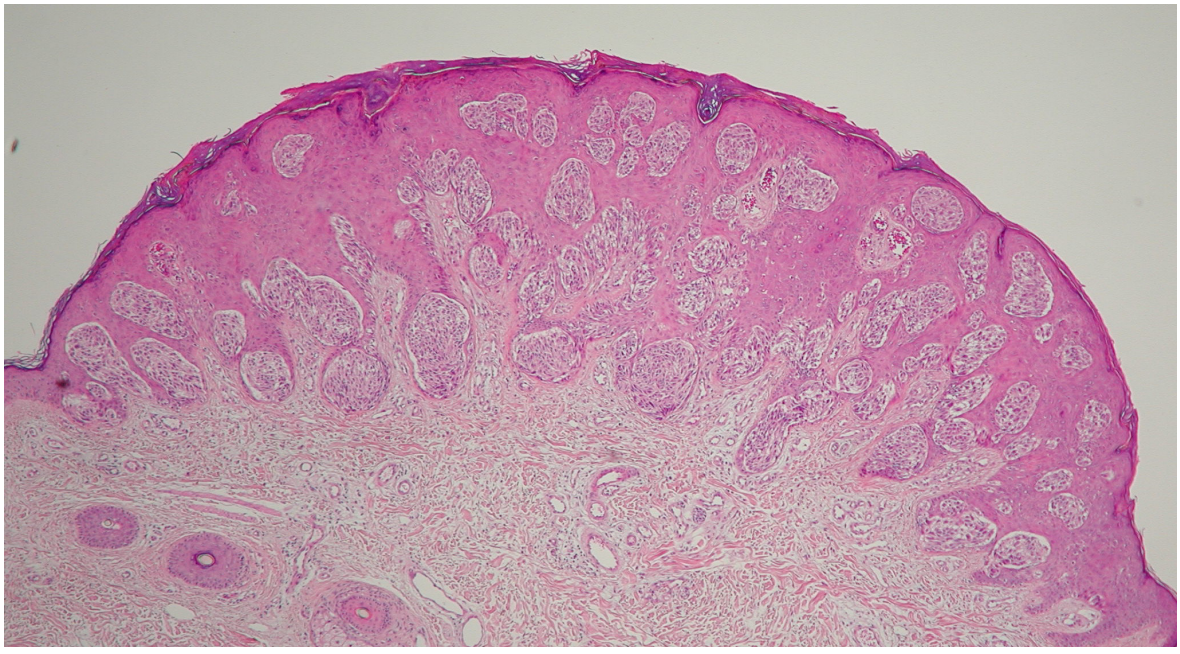


Abbildung 2: Naevus Spitz, Junktionstyp (7433/99)
Domförmig, symmetrisch aufgebauter und zu beiden Seiten scharf begrenzter Tumor mit epidermaler Hyperplasie, Hypergranulose. Nävoide Zellelemente ausschließlich junktional. (HE x20)

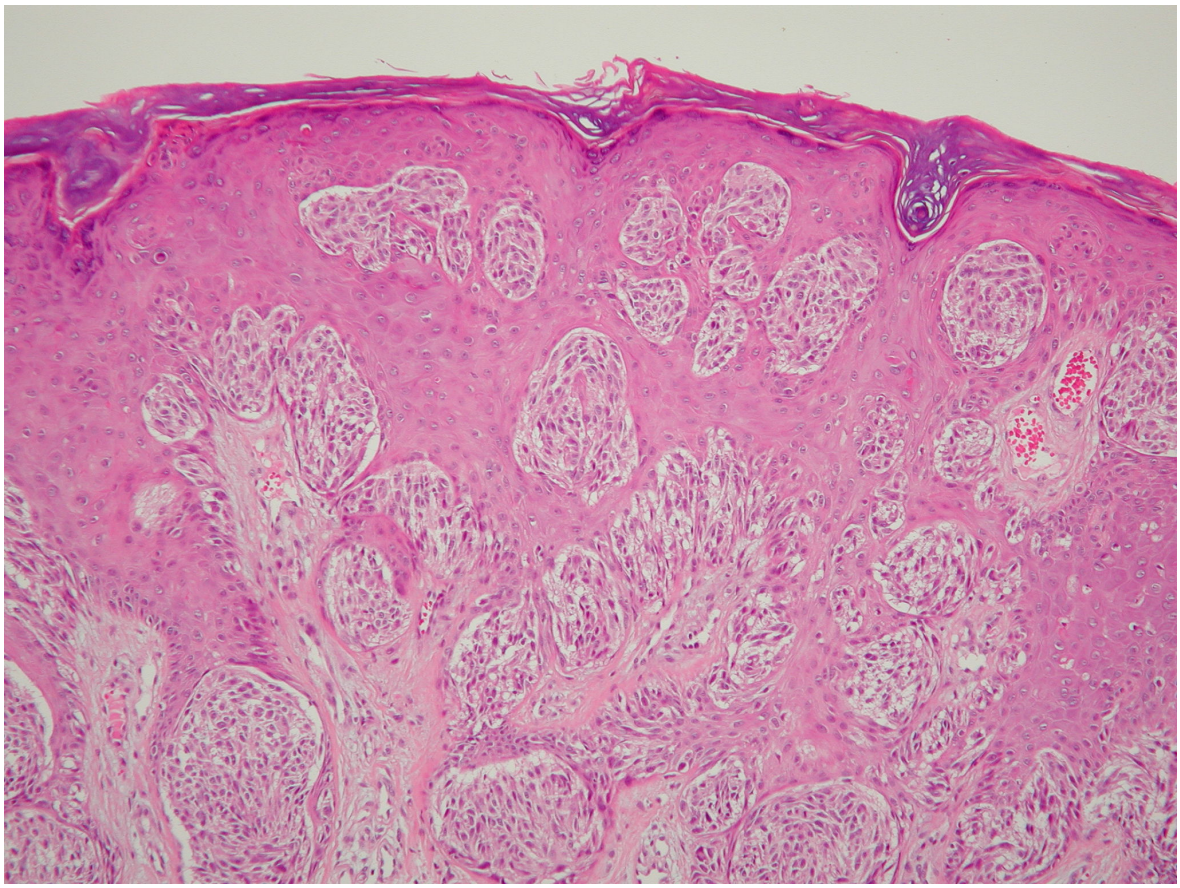


Abbildung 2.1: Naevus Spitz, Junktionstyp (7433/99)
Ausschnittsvergrößerung mit Darstellung spindelzelliger/epitheloidzelliger in Nestern angeordneter Melanozyten nicht nur rein basal sondern, auch in höheren Epithelschichten. (HE x100)

Der Naevus Spitz wird aufgrund seiner histologischen Ähnlichkeit zum malignen Melanom auch der Gruppe der benignen Melanom-Imitatoren zugeordnet [Panagio-Perreira et al., 1978; Paredes und Hartmeier, 1998]. Andere Imitatoren sind zum Beispiel der dysplastische Naevus, der Naevus recurrens, genitale und akrale Naevi oder der Halo-Naevus (Sutton-Naevus) (siehe Tabelle 1.3.1 auf Seite 13).[10]
Zu jedem Melanomimitator können differentialdiagnostische Kriterien erarbeitet werden, die allerdings keine absolute Sicherheit geben.

Naevus Spitz
Dysplastischer Nävus („Naevus Clark“)
Nävus recurrens (Rezidivnaevus, persistierender Nävus) [Kornberg und Ackerman, 1975]
Pigmentierter Spindelzelltumor Reed
Nävus mit genitoanaler Lokalisation [Christensen et al., 1987]
Akraler Nävus [Kerl et al., 1984]
Halo-Naevus (Naevus Sutton)
„deep penetrating nevus“ [Saeb et al., 1989]
Blaue Nävi und Varianten [Gonzàles-Càmpora et al., 1994]
Nävus beim Neugeborenen [Kerl et al., 1989]
„ancient nevus“ [Kerl et al., 1993]
Naevus nach UV-Exposition, PUVA-Therapie [Tronnier und Wolff, 1995]
Retikuläre Lentigo („ink-spot lentigo“) [Kaddu et al., 1995]

Tabelle 1.3.1: Benigne Melanom-Imitatoren

Das maligne Melanom ist der bösartige Tumor der epidermalen Melanozyten. Es gehört zu den bösartigsten Neoplasmen der Haut und der Schleimhäute [MacKie, 1998]. Aufgrund seines invasiven Wachstums und frühzeitiger lymphogener und/oder hämatogener Metastasierung besitzt es bei verzögerter Diagnosestellung eine schlechte Prognose. Der sicherste prognostische Parameter für ein primäres kutanes malignes Melanom ist die Bestimmung der maximalen Tumordicke nach Breslow. Mittels Messokular wird am histologischen Präparat in vertikaler Richtung (im 90° Winkel zur Epidermisoberfläche) die Entfernung vom Stratum granulosum der Epidermis bis zur tiefstliegenden Tumorzelle gemessen. Die Tumordicke nach Breslow wird in mm angegeben. [Breslow, 1979; Breslow, 1975].

Maligne Melanome treten bei Menschen asiatischen und afrikanischen Ursprungs sehr viel seltener auf als bei Individuen mit kaukasischem Hauttyp [MacKie, 1997].

Vor der Pubertät kommt das maligne Melanom selten vor, es entsteht bei ca. 50% der Fälle auf einem kongenitalen Naevus.

Ätiologisch wird die Belastung durch natürliche solare UV-Strahlung als größtes Risiko für die Entstehung eines malignen Melanoms angesehen. Wiederholten schweren Sonnenbränden, insbesondere in der Kindheit und im frühem Erwachsenenalter wird dabei große Bedeutung beigemessen [Kopf et al., 1984].

Die häufigsten Lokalisationen des malignen Melanoms differieren bei Frauen und Männern. Frauen bekommen bevorzugt maligne Melanome im Gesicht und an den Beinen, Männer an den oberen Rumpfpartien. Es kann jedoch jede Hautstelle betroffen sein, auch

an der Mund- und Genitalschleimhaut können primäre Melanome entstehen. Maligne Melanome gibt es auch im Bereich des Auges.
Das maligne Melanom weist eine außerordentliche morphologische Vielfalt auf, die seine klinische und pathologische Diagnose oft schwierig macht.
Clark et al. haben 1969 unter klinischen und histopathologischen Gesichtspunkten das maligne Melanom in drei Gruppen unterteilt: das superfiziell spreitende Melanom (SSM), das primär noduläre Melanom (NM) und das Lentigo-maligna-Melanom (LMM) [Clark et al., 1969]. Reed et al. fügten 1975 eine vierte Gruppe hinzu: das akrolentiginöse maligne Melanom (ALM) [Reed et al., 1975].
Es gibt jedoch Varianten des malignen Melanoms, die nicht in diese Klassifikation eingereiht werden können. So zum Beispiel das amelanotische maligne Melanom (AMM) und das desmoplastische maligne Melanom, die seltener und sowohl klinisch als auch histopathologisch besonders schwierig zu diagnostizieren sind.
Zu diesen Varianten zählt auch das (echte) maligne Melanom in der Kindheit.

Speziell das maligne Melanom in der Kindheit kann einen Naevus Spitz imitieren und wird dann häufig als „spitzoides“ malignes Melanom bezeichnet (siehe Abbildung 3 und 3.1 auf Seite 15). Es wird der Gruppe der malignen Naevus-Imitatoren zugeordnet, die in Tabelle 1.3.2 auf Seite 14 aufgelistet sind.

„Spitzoides“ Melanom
„Maligner blauer Naevus“
Spindelzell-Melanom
Rezidiv-Melanom
„Halo-Melanom“
Genitales Melanom
Akrales Melanom
Irritiertes Melanom
UV-expon. Melanom
Neugeborenen-Melanom
Melanom in Naevus

Tabelle 1.3.2: Maligne Naevus-Imitatoren

Der Naevus Spitz kann, wie schon bemerkt, in jedem Lebensalter auftreten, so dass sich auch im Erwachsenenalter die Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. malignes Melanom stellt [Paredes und Hardmeier, 1998].

Hieraus ergibt sich das Problem, wie in solchen Grenzfällen die richtige Diagnose gestellt werden kann.

Der Histopathologe diagnostiziert diese oft so schwierigen Fälle anhand architektonischer und zytologischer Merkmale, die in Tabelle 1.4 dargestellt sind.

Diese Merkmale rein deskriptiven Charakters führen jedoch oftmals selbst bei den Experten zu keinem Konsens in der Diagnosestellung [Farmer et al., 1996; Ackerman, 1996], da das „spitzoide“ maligne Melanom und der Naevus Spitz oft mehr architektonische und zytologische Gemeinsamkeiten aufweisen, als dass sie sich unterscheiden.

Alle zuvor beschriebenen histopathologischen Charakteristika des Naevus Spitz können auch bei einem „spitzoiden“ malignen Melanom vorkommen, und umgekehrt kann ein Naevus Spitz mehrere Charakteristika eines malignen Melanoms aufweisen.

Es handelt sich somit um keine absolut sicheren Kriterien, um zwischen einem Naevus Spitz und einem malignem spitzoidem Melanom zu unterscheiden.

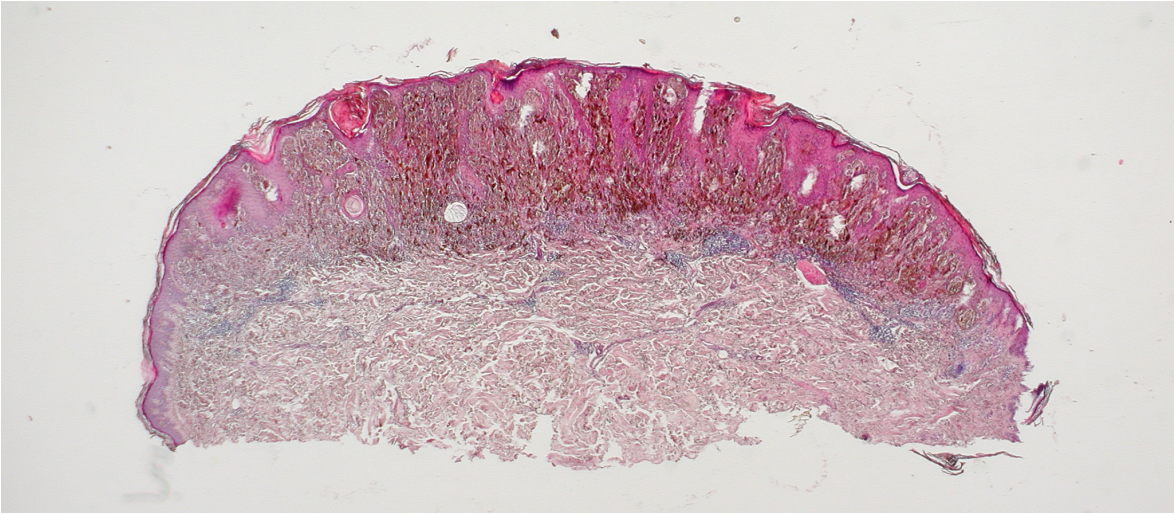


Abbildung 3: „spitzoides“ malignes Melanom (11362/00)

Relativ scharf begrenzter und symmetrisch aufgebauter Tumor. (HE x20)

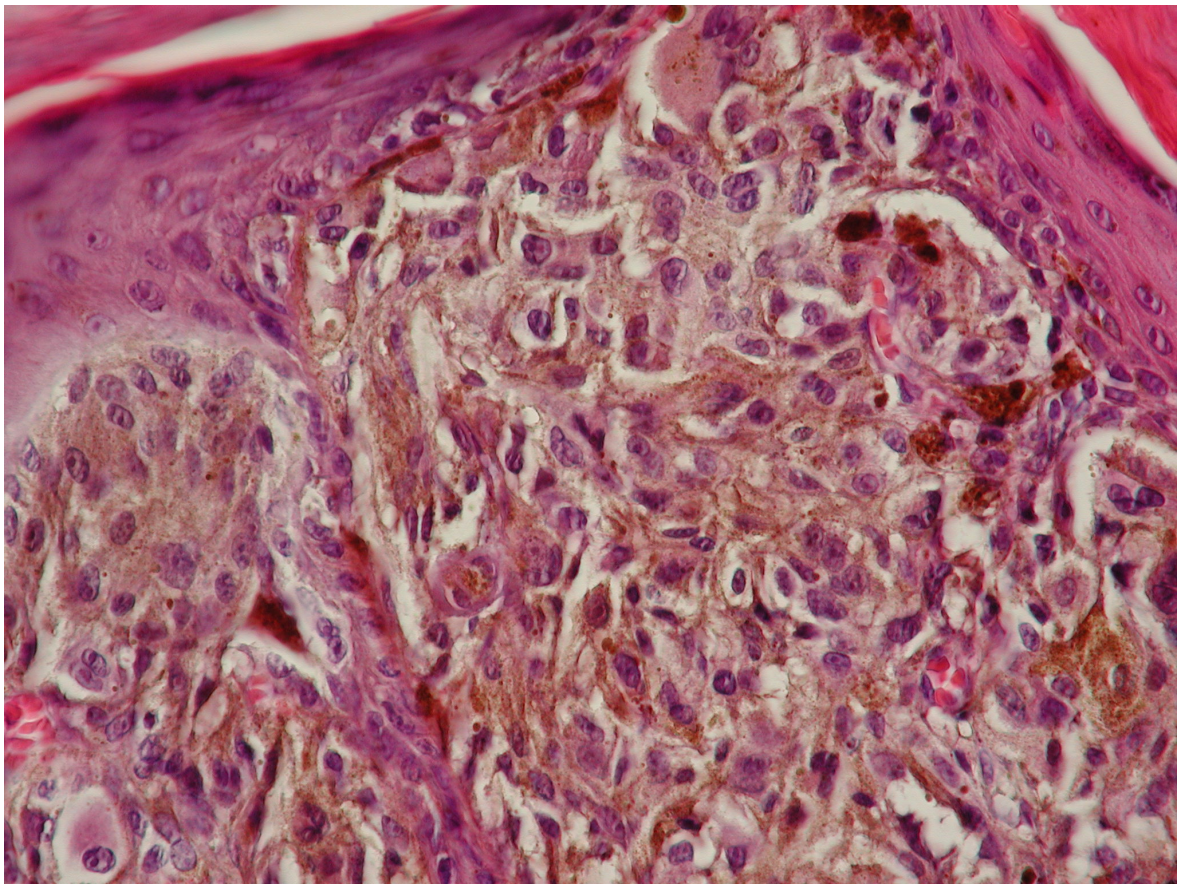


Abbildung 3.1: „spitzoides“ malignes Melanom (11362/00)

In der Ausschnittsvergrößerung erkennt man ein flächiges („sheet-artiges“) Wachstum der melanozytären Zellen. Zusätzlich deutliche Zellpleomorphien, Zellkernatypien und vereinzelt Mitosen. (HE x200)

Malignes Melanom	**Naevus Spitz**
Architektonisches Muster • Asymmetrischer Aufbau • Unscharfe seitliche Begrenzung • Melanozyten durchsetzen einzeln und in Nestern alle Schichten der Epidermis und liegen in unregelmäßigen Abständen zueinander • Nester sind unterschiedlich groß und unterschiedlich konfiguriet • Melanozyten mehr einzeln stehend als zu Nestern aggregiert • Melanozyten in suprabasalen Zellschichten der Epidermis • Melanozyten durchsetzen auch die Adnexepithelien • Unregelmäßige Verteilung des Melanins im Gesamttumor • Ungleichmäßige Verteilung des Entzündungsinfiltrates • Diskontinuierlicher Tumor mit intratumoral gelegenen Epidermisabschnitten ohne Melanozyten („skip areas“) • Große kohesive Melanozytenverbände im Korium („sheets“)	*Architektonisches Muster* • Symmetrischer Aufbau • Scharfe seitliche Begrenzung • Melanozyten liegen vornehmlich in Nestern mit regelmäßigen Abständen zueinander • Die Nester sind gleich groß und ähnlich konfiguriet • Spaltbildung um elongierte Melanozytennester und umgebenden Keratinozyten • Kompakte Orthokeratose, Hypergranulose und unregelmäßige epidermale Hyperplasie • Regelmäßige Verteilung des wenigen Melanins im Gesamttumor • Gleichmäßige Verteilung des Entzündungsinfiltrates
Zytologische Kriterien • Polymorphie und Atypie der Melanozyten (große, pleomorphe, anisochrome Kerne; oft reichlich Zytoplasma) • Mitosen in Melanozyten • Fehlendes Abnehmen der Zell- und Kerngröße („Reifung“, „Maturation“) zur Basis des Tumors	*Zytologische Kriterien* • Vergrößerte Melanozyten mit großen Zellkernen, die in auffällig wiederholbaren ovalen, runden und polygonalen Formen auftreten • Kaum Mitosen in Melanozyten • Vorkommen von mehrkernigen Riesenzellen • Charakteristische fischzugartige Wirbel von Spindelzellen/Epitheloidzellen • Abnehmen der Zell- und Kerngröße („Reifung“, „Maturation“) zur Basis des Tumors • Häufiges Auftreten eosinophiler Globuli, Kamino-Bodies

Tabelle 1.4: Histologische Kriterien für die Differentialdiagnose zwischen malignem Melanom und Naevus Spitz *
*****Tabelle modifiziert nach Busam und Barnhill [1995] sowie Tronnier et al. [1997]

Die Frage bleibt somit offen, wann es sich, insbesondere in schwierigen Grenzfällen, um einen Naevus Spitz und wann es sich um ein „spitzoides“ Melanom handelt.

Bis jetzt sind keine Antigene bekannt, welche für das maligne Melanom streng spezifisch sind, somit gibt es keine Möglichkeit einer eindeutigen immunpathologischen

Identifizierung. Die Diagnose stützt sich weiterhin auf individuelle Erfahrungswerte, gewonnen bei benignen und malignen Neoplasmen und unterliegen somit nicht nur objektiven, sondern letztlich auch subjektiven Kriterien des Histopathologen [Farmer et al., 1996; Ackerman, 1996].

Malignität eines Tumors ist definitionsgemäß verbunden mit der Kapazität, invasiv zu wachsen und zu metastasieren. Untersuchungen bei verschiedenen Tumorformen, wie zum Beispiel dem Nierenzellkarzinom oder dem Astrozytom, konnten zeigen, das eine Korrelation zwischen Zellproliferation und Malignität besteht und sich daher die quantitative Bestimmung des Proliferationsindex als diagnostisches Hilfsmittel eignet [Jochum et al., 1996; Wakimoto et al., 1996].
Der Frage, ob mit Hilfe der Proliferationsraten Spitz Naevi und „spitzoide“ maligne Melanome unterschieden werden können, soll in dieser Arbeit nachgegangen werden.

Hierzu wurde der monoklonale Antikörper Ki-67, Klon MIB-1, als Proliferationsmarker verwendet. Da hierbei aber sämtliche proliferierenden Zellen der Epidermis und der Dermis, also auch Keratinozyten, Fibroblasten und Entzündungszellen markiert werden, wurde zur besseren Differenzierung proliferierender Melanozyten von Keratinozyten eine immunhistochemische Doppelfärbug mit Vimentin, Klon V9, und Ki-67, Klon MIB-1, entwickelt. Vimentin, Klon V9, als Marker für Zellen mesenchymalen Ursprungs, wurde hierbei zur Differenzierung zwischen Melanozyten und Keratinozyten herangezogen. Vimentin stellt Melanozyten dar, während Keratinozyten Vimentin-negativ reagieren.
Mit Hilfe dieser Marker bzw. Färbemethoden soll überprüft werden, welchen Stellenwert die Proliferation von Melanozyten bei der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. malignes Melanom einnimmt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Auswahl der histologischen Präparate

Aus einem Kollektiv von ca. 150.000 histologischen Präparaten der Jahre 1996 bis 2001 wurden 270 melanozytäre Naevi der Entität Naevus Spitz und 40 maligne Melanome vom Typ „spitzoides“ malignes Melanom ausgewählt.

Das Kollektiv setzt sich aus Einsendungspräparaten und Präparaten der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Universität zu Lübeck sowie der Dermatologischen Praxis von Prof. Dr. Mensing in Hamburg zusammen.

Die Auswahl der Präparate erfolgte mit Hilfe des histologischen Verwaltungs- und Archivierungsprogramms „HIDIS“ an der Universitätshautklinik sowie dem Programm „GENOPRAX“ in der Dermatologischen Praxis Prof. Dr.Mensing.

Die 310 melanozytären Tumoren wurden nochmals, unabhängig von ihrer Erstbefundung, zusammen mit Prof. Dr. Wolff mikroskopisch begutachtet. Mit Hilfe eines eigens erstellten Auswertungsbogens wurden die Tumoren auf histopathologische Charakteristika von Naevus Spitz und spitzoidem malignem Melanom überprüft (Auswertungsbogen im Anhang). Nur die Tumore, die eine Mehrzahl der entsprechenden histopathologischen Merkmale, sowohl zytologische als auch architektonische Charakteristika, aufwiesen, wurden in das endgültige Kollektiv dieser Arbeit aufgenommen. Ziel war es, nur eindeutige Naevi Spitz und „spitzoide“ maligne Melanome aus den 310 melanozytären Tumoren herauszufiltern, um eine möglichst genaue Darstellung von Proliferation für die entsprechende Tumorgruppe zu ermitteln.

Naevi Spitz wurden hierbei histologisch zusätzlich unterschieden in Junktions-, Compound- und dermalen Typ. Da die differenzialdiagnostischen Schwierigkeiten für den Dermatohistopathologen hauptsächlich jedoch in der Differenzierung zwischen junktionalen und Compound Naevi Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom liegt, wurden in dieser Arbeit keine dermalen Naevi Spitz in die Untersuchung einbezogen.

Zusätzlich konnte eine Vergleichsgruppe mit malignen Melanomen mit einer Tumordicke von größer als 1 mm, erstellt werden. Insgesamt gingen somit 62 melanozytäre Tumoren der Entitäten Naevus Spitz vom junktionalen Typ, vom Compound Typ, „spitzoide“ maligne Melanome und maligne Melanome in die Auswertung.

Die genaue Verteilung auf die einzelnen Diagnosen ist in Tabelle 2.1 dargestellt.

Entität	Anzahl
Naevus Spitz vom junktionalen Typ	21
Naevus Spitz vom Compound Typ	18
„spitzoides“ malignes Melanom	12
Malignes Melanom	11

Tabelle 2.1: Verteilung der untersuchten Tumoren

2.2 Aufarbeitung der histologischen Präparate

Die dem Archiv des Labors entstammenden Paraffinblöcke der melanozytären Tumoren wurden bei –20°C auf einer Kühlplatte gekühlt.

Nach dem Kühlen der Blöcke wurde mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms Schnitte in direkter Reihenfolge in der Dicke von 4 Mikrometern angefertigt. Im Wasserbad wurden die Schnitte auf beschichtete Objektträger aufgezogen, wobei versucht wurde, möglichst immer zwei Schnitte auf einen Objektträger aufzuziehen. Da einige Blöcke aufgrund vorangegangener Serienschnitte weit aufgeschnitten waren, konnte auf mehrere Objektträger nur ein Schnitt aufgezogen werden. Ein Block war so weit aufgeschnitten, dass er aus der Auswertung herausgenommen werden mußte.

Von jedem Präparat wurden pro immunhistochemischem Marker zwei Objektträger plus Negativkontrolle angefertigt. Bei Qualitätsmängeln an bestehenden Präparaten der HE-Färbung wurde von diesen grundsätzlich ein neues Präparat mit HE gefärbt.

2.3 Laborgeräte

-Mikrotom:	Modell 2030, Reichert & Jung GmbH
-Wasserbad:	Typ WB 24, Medax Nagel GmbH
-Feuchte Kammer:	Nach Maß von der Firma Werner Hassa GmbH-Laborbedarf
-Magnetrührer:	Typ Ikamag-RCT, Firma IKA-Werk Janke & Kunkel GmbH & Co KG
-pH-Meter:	Modell pH Digi 520, Firma WTW
-Mini-Shaker:	Modell Mini-Shaker, Firma Adolf Kühne AG
-Waage:	Modell Handy H120-D2, Firma Sartorius
-Fotomikroskop:	BX40, Olympus Germany
-Dampfkochtopf:	Modell Sicomatic-L, Firma SILIT
-Objektträger:	Typ SuperFrost® Plus, Firma Menzel-Gläser

2.4 Puffer und Substratlösungen

TBS, Tris-gepufferte physiologische Kochsalzlösung (Saline):

Zusammensetzung: 60,55g Trishydroxymethylaminomethan (Merck, 1.08382.0500)
+ 85,20g NaCl (Merck, 1.06404.1000)
in ca. 400ml Aqua dest lösen
ca. 350ml 1 n HCl (36,461 HCl auf 1000ml Aqua)
(Merck, 1.09970. Titrisol®) zufügen und den pH-Wert auf 7,6 einstellen.
Mit Aqua dest auf 10000ml auffüllen.

10mM Zitratpuffer, pH 6,0 für Andauungsmethode im Dampfdrucktopf:

Stammlösung A: 0,1 M Zitronensäuremonohydrat (Merck, 1.00244.0500)
2,101g Zitronensäuremonohydrat in 100ml aqua dest.auflösen

Stammlösung B: 0,1 M Tri-Natriumcitrat-Dihydrat (Merck, 1.06448.0500)
5,882g Tri-Natriumcitrat-Dihydrat in 200ml Aqua auflösen

Gebrauchslösung:
18ml Stammlösung A
plus
82ml Stammlösung B

Alles auf 1l aqua dest. auffüllen.

Lösung für die Wasserstoffperoxid-Behandlung bei der Doppelfärbung:

Zusammensetzung: 7ml von 30,7%igem Wasserstoffperoxid in 53ml Aqua bidest lösen.

Lösung für die Triton-Behandlung bei der Doppelfärbung:

Zusammensetzung: 100mg 0,2%iges Triton in 50ml Aqua bidest lösen.

Entwicklungspuffer der APAAP-Methode (für 175ml):

Zusammensetzung: 8,7g NaCl (Merck, 1.06406.1000)
1,5g Tris-HCl (Sigma, T-3253)
4,9g Tris-Base (Sigma, T-1503)
in 175ml Aqua bidest (Delta-Pharma) lösen.

Propandiol:

Zusammensetzung: 21g 2Amino-2methyl-1,3-propandiol auf 1000ml Aqua bidest, im Kühlschrank aufbewahren.

Hämatoxylin nach Mayer (2,5l):

Zusammensetzung: 1g Hämatoxylin
0,2g Natriumiodat
50g Aluminiumkaliumsulfat
50g Chloralhydrat
1g Citronensäure

VECTASTAIN ABC Kit elite; Mouse IgG (VECTOR Laboratories, PK-6102)
DAB-Substratlösung für Peroxidase (VECTOR Laboratories, Catalog Number SK-4100):

Zusammensetzung:

1. Zu 5ml destilliertem Wasser werden 2 Tropfen Buffer Stock Solution gegeben und kräftig vermischt.
2. Es werden 4 Tropfen der DAB Substratlösung zugegeben und vermischt.
3. Zu diesem werden 2 Tropfen Hydrogen Peroxidase Lösung gegeben und vermischt.
4. Bei gewünschter grau-schwarz Färbung werden 2 Tropfen einer Nickel-Lösung hinzugegeben und vermischt.

Human Serum (Jackson Immunoresearch, Code-Nr. 009-00-001):

2ml Lyophylisat rehydrieren mit 2ml Aqua bidest
Inkubation: 45 Minuten bei 60°C
Bei Gebrauch: 2ml plus 8ml TBS (1:5)

2.5 Antikörper

Monoklonaler Antikörper Ki-67, Klon MIB-1 von der Maus
(DAKO, M 7240)
Monoklonaler Antikörper Vimentin, Klon V9 von der Maus
(DAKO, M 0725)
Sekundär-/Brückenantikörper (Kaninchen Anti-Mausimmunglobulin)
(DAKO, Z 0259)
APAAP-Komplex, monoklonal, von der Maus
(DAKO, D 0651)
DAKO Antibody diluent with background reducing components
(DAKO, S 3022)

2.6 Methoden

Die immunhistochemischen Färbungen erfolgte mit dem Marker Ki-67, Klon MIB-1 in der APAAP (Alkalische Phosphatas-Anti-Alkalische Phosphatase) - Technik.
Zusätzlich wurde eine Doppelfärbung mit den Markern Vimentin, Klon V9, Ki-67 und Klon MIB-1 entwickelt. Diese immunhistochemische Doppelfärbung wurde im ersten Schritt mit der ABC (Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex)-Technik und im zweiten Schritt in der APAAP-Technik durchgeführt.
Das Ziel war eine Optimierung der Anfärbung proliferierender melanozytärer Zellen bei bestmöglicher Unterdrückung etwaiger Hintergrundsfärbungen.
Aufgrund der Anfälligkeit für Fehler während einer Doppelfärbung wurde ein Maximum von 16 Präparaten pro Färbedurchgang nicht überschritten.

2.6.1 APAAP (Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase) – Technik

1. <u>Entparaffinieren:</u>

2 x 15min	Xylol
2 x 5min	100% Ethanol
2 x 2min	100% Ethanol
1min	96% Ethanol
1min	70% Ethanol
1min	Aqua

Waschen der entparaffinierten und rehydrierten Schnitte in Trispuffer (TBS) für 5min.

2. Demaskierung (Andauungsmethode im Dampfdruckkochtopf):

Gebrauchslösung des 10mM Zitratpuffer, pH 6,0 auf 1 Liter Aqua dest auffüllen und in den Dampfdruckkochtopf geben.
Die Objektträger in den Kochtopf stellen, wenn der Puffer zu kochen beginnt.
Der Kochtopf muß fest verschlossen werden.
Sobald Dampf austritt, werden die Objektträger für 3min gekocht.
Anschließend wird der Kochtopf von der Heizplatte genommen und geschlossen unter fließendem Wasser abgekühlt.
Der Topf kann dann geöffnet werden.
Kaltes Wasser in den jetzt offenen Topf laufen lassen, bis die Objektträger abgekühlt sind.
Anschließend Spülen der im Dampfdruckkochtopf behandelten Schnitte mit TBS.

3. Primärer Antikörper:

Monoklonaler Antikörper Ki-67, Klon MIB-1:
Inkubation mit vorverdünntem monoklonalem Antikörper Ki-67, Klon MIB-1 von der Maus, in TBS verdünnt im Verhältnis 1:10, in feuchter Kammer für 30 Minuten.

4. Brückenantikörper:

Inkubation mit einem Kaninchen Anti-Maus Immunglobulin (DAKO, Z 0259), verdünnt im Verhältnis 1:20 in einem Gemisch aus TBS (4 Teile) und hitzeinaktiviertem Humanserum (1 Teil), für 30 Minuten.

5. APAAP-Komplex:

Inkubation mit dem APAAP-Komplex (DAKO, D 0651), verdünnt im Verhältnis 1:50 in TBS, für 30 Minuten.

6. Brückenantikörper (Wiederholung) 10 min (siehe Schritt 4):

7. APAAP-Komplex (Wiederholung) 10 min (siehe Schritt 5):

8. Entwicklung:

Inkubation mit frisch angesetztem alkalischen Phosphatase Substrat nach der Neufuchsin Methode.
Zwischen den einzelnen Inkubationsschritten wird jeweils mit TBS gewaschen.

Für 250 ml Entwicklungslösung werden benötigt:

I. 175 ml Entwicklungspuffer (siehe Rezeptur)
und
62,5 ml Propandiol (siehe Rezeptur)

Entwicklungspuffer und Propandiol zusammengießen und auf pH 9,75 einstellen. Nach dem Einstellen des pH-Wertes 100 mg Levamisol (Sigma L-9756) zur Unterdrückung der endogenen alkalischen Phosphataseaktivität zugeben.

II. 50 mg Natriumnitrit (Sigma S-2252) in 1250 Mikroliter Aqua bidest lösen.

III. 125 mg Naphtol-As-Bi-Phosphat (Sigma N-2250) in 1500 Mikroliter DMF (Dimethylformamid) (Merck, 3034) lösen.

Nun in das gelöste Na-Nitrit 500 Mikroliter Neufuchsin geben und genau 1 min reagieren lassen.

Ansatz Neufuchsin: 5 g Neufuchsin (Merck, 4040) in 100 ml 2n HCL (Merck, 1.09970 Titrisol) lösen und in dunkler Flasche im Kühlschrank aufbewahren.

Danach Lösung II und Lösung III in festgelegter Reihenfolge in den Entwicklungspuffer (Lösung I) geben:
Zuerst Lösung II, dann Lösung III.
Anschließend mit Hilfe von 2n HCL (Merck, 1.09970 Titrisol) auf pH 8,8 einstellen.
Die Entwicklungslösung filtrieren und die Präparate anschließend für 3 Minuten auf dem Schüttler in der Entwicklungslösung inkubieren (pro Küvette 8 –10 Präparate).
Danach werden die Präparate für 7-10 Minuten in fliessend Wasser gestellt.
Die Präparate für die immunhistochemische Färbung mit dem Marker Topoisomerase IIa, Klon Ki-S1, muß 6 Minuten auf dem Schüttler in der Entwicklungslösung inkubieren.

9. Gegenfärbung:

Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer (siehe Rezeptur) für 3 Minuten
Anschliessend Waschen der Präparate in fliessendem kalten Wasser für 10 Minuten.

10. Eindecken:

Zwischen den einzelnen Inkubationsschritten wird jeweils mit TBS gewaschen.

Alternativ zur Neufuchsin-Methode kann auch die einfacher zu handhabende Fast-Red-Methode angewendet werden, welche jedoch erheblich schwächere Färbungsresultate liefert und deswegen an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt werden soll.

2.6.2 Immunhistochemische Doppelfärbung mit den Markern Vimentin, Klon V9, und Ki-67, Klon MIB-I in ABC- und APAAP-Technik

Teil I: Ki-67,Klon MIB-1 in ABC-Technik:

1. Entparaffinieren:

2 x 15min	Xylol
2 x 5min	100% Ethanol
2 x 2min	100% Ethanol
1min	96% Ethanol
1min	70% Ethanol
1min	Aqua

2. Demaskierung (Andauungsmethode im Dampfdruckkochtopf):

Gebrauchslösung des 10mM Zitratpuffer, pH 6,0 auf 1 Liter Aqua dest auffüllen und in den Dampfdruckkochtopf geben.
Die Objektträger in den Kochtopf stellen, wenn der Puffer zu kochen beginnt.
Der Kochtopf muß fest verschlossen werden.
Sobald Dampf austritt, werden die Objektträger für 2 min gekocht.
Anschließend wird der Kochtopf von der Heizplatte genommen und geschlossen unter fließendem Wasser abgekühlt.
Der Topf kann dann geöffnet werden.
Erneut kaltes Wasser in den jetzt offenen Topf laufen lassen, bis die Objektträger abgekühlt sind.

Anschließend Spülen der im Dampfdruckkochtopf behandelten Schnitte mit TBS.

3. H_2O_2-Behandlung:

Inkubation der Objektträger für 5 Minuten in:
7 ml 30,7%igem Wasserstoffperoxid + 53 ml Aqua bidest

4. Triton-Behandlung:

   Inkubation der Objektträger für 5 Minuten in:
   100 mg 0,2% Triton auf 50 ml Aqua bidest
   Objektträger in TBS überführen

5. Inkubation mit Normalserum:

   Inkubation der Objektträger mit Normalserum aus Vectastain ABC-Kit elite, Mouse IgG (Vector laboratories, PK-6102) für 15 Minuten.

   15 µl Normalserum auf 1ml TBS

6. Primärantikörper:

   Inkubation mit vorverdünntem monoklonalem Antikörper Ki-67, Klon MIB-1 von der Maus, in Background reduzierendem Medium (DAKO, S-3022) verdünnt im Verhältnis 1:10, in feuchter Kammer für 30 Minuten.

7. Biotinierter Antikörper:

   Inkubation der Objektträger mit biotinierten Antikörper aus Vectastain ABC-Kit elite, Mouse IgG (Vector laboratories, Pk-6102) für 30 Minuten.

   5 µl biotinilierter Antikörper auf 1 ml TBS

8. ABC-Reagenz:

   Inkubation der Objektträger mit ABC-Reagenz aus Vectastain ABC-Kit elite, Mouse IgG (Vector laboratories, Pk-6102) für 30 Minuten.

   20 µl Lösung A + 20 µl Lösung B auf 1 ml TBS

   Das ABC-Reagenz muß 30 Minuten vor Gebrauch angesetzt werden.

9. DAB-Substratlösung:

Erstellung der DAB-Substratlösung kurz vor dem Färbevorgang (siehe Rezeptur).
Inkubation der Objektträger mit DAB-Substratlösung für 3 Minuten in feuchter Kammer unter laufender mikroskopischer Kontrolle der Farbintensität der proliferierenden Melanozyten.
In dieser Doppelfärbung wurde die DAB-Substratlösung mit Nickel versetzt, damit die positiv proliferierenden Melanozyten grau-schwarz gefärbt werden.
Diese dunkle Färbung der Zellkerne hebt sich später sehr viel besser von dem durch Vimentin rötlich gefärbten Zytoplasma der Melanozyten ab als eine Braunfärbung der Kerne.

Zwischen den einzelnen Inkubationsschritten wird jeweils mit TBS gespült

Teil II: Vimentin, Klon V9 in APAAP-Technik

1. Primärer Antikörper:

Monoklonaler Antikörper Vimentin, Klon V9 (DAKO, M-0725)
Inkubation mit vorverdünnten monoklonalen Antikörper Vimentin, Klon V9, in Background reduzierendem Medium (DAKO, S-3022) verdünnt im Verhältnis 1:400, in feuchter Kammer für 30 Minuten.

2. Brückenantikörper:

Inkubation mit einem Kaninchen Anti-Maus Immunglobulin (DAKO, Z 0259), verdünnt im Verhältnis 1:20 in einem Gemisch aus TBS (4 Teile) und hitzeinaktiviertem Humanserum (1 Teil), für 30 Minuten.

3. APAAP-Komplex:

Inkubation mit dem APAAP-Komplex (DAKO, D 0651), verdünnt im Verhältnis 1:50 in TBS, für 30 Minuten.

4. Brückenantikörper (Wiederholung) 5 min (siehe Schritt 2):

5. APAAP-Komplex (Wiederholung) 5 min (siehe Schritt 3):

6. Entwicklung:

   Inkubation mit frisch angesetztem alkalischen Phosphatase Substrat nach der Neufuchsin Methode.

   Für 250 ml Entwicklungslösung werden benötigt:

   I. 175ml Entwicklungspuffer (siehe Rezeptur)
   und
   62,5 ml Propandiol (siehe Rezeptur)

   Entwicklungspuffer und Propandiol zusammengießen und auf pH 9,75 einstellen.

   Nach dem Einstellen des pH-Wertes 100 mg Levamisol (Sigma L-9756) zur Unterdrückung der endogenen alkalischen Phosphataseaktivität zugeben.

   II. 50 mg Natriumnitrit (Sigma S-2252) in 1250 Mikroliter Aqua bidest lösen.

   III. 125 mg Naphtol-As-Bi-Phosphat (Sigma N-2250) in 1500 Mikroliter DMF (Dimethylformamid) (Merck, 3034) lösen.

   Nun in das gelöste Na-Nitrit 500 Mikroliter Neufuchsin geben und genau 1 min reagieren lassen

   Ansatz Neufuchsin: 5 g Neufuchsin (Merck, 4040) in 100 ml 2n HCL (Merck, 1.09970 Titrisol) lösen und in dunkler Flasche im Kühlschrank aufbewahren.

Danach Lösung II und Lösung III in festgelegter Reihenfolge in den Entwicklungspuffer (Lösung I) geben:
Zuerst Lösung II, dann Lösung III.
Anschließend mit Hilfe von 2n HCL (Merck, 1.09970 Titrisol) auf pH 8,8 einstellen.
Die Entwicklungslösung filtrieren und die Präparate anschließend für 3 Minuten auf dem Schüttler in der Entwicklungslösung inkubieren (pro Küvette 8 –10 Präparate).
Danach werden die Präparate für 7-10 Minuten in fließend Wasser gestellt.
Die Präparate für die immunhistochemische Färbung mit dem Marker Topoisomerase IIa, Klon Ki-S1, muß 6 Minuten auf dem Schüttler in der Entwicklungslösung inkubieren.

7. Gegenfärbung:

Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer (siehe Rezeptur) für 3 Minuten.
Anschließend waschen der Präparate in fließendem kalten Wasser für 10 Minuten.

8. Eindecken:

2.7 Kontrollen

Um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu sichern, wurden in jedem Färbedurchgang positive und negative Kontrollen zusammen mitgeführt. Als Positivkontrollen dienten Serienschnitte von Melanomen und Naevi, bei denen die jeweils positive Reaktion nachgewiesen war. Die Positivkontrollen wurden gegenüber den Untersuchungspräparaten identisch behandelt. Bei den Negativkontrollen handelte es sich um den jeweiligen Schnitt, bei dem anstelle des Primärantikörpers Trispuffer verwendet wurde.

2.8 Auswertung der Präparate

2.8.1 Erhebung des immunhistologischen Befundes

Bei der Erhebung des immunhistologischen Befundes wurde die Proliferationsrate in den jeweiligen Tumoren ermittelt. Es sollte möglichst die gesamte Tumorbreite und -tiefe bezüglich der quantitativen Proliferation erfasst werden. Hierzu wurden aus den meist relativ symmetrisch aufgebauten Tumoren 10 Gesichtsfelder ausgewählt. Mit Hilfe des Fotomikroskops BX40, Olympus Germany, mit SONY Videokameraaufsatz wurden die Gesichtsfelder in 20-facher Vergrösserung herausfotografiert und anschließend digitalisiert.

Im zentralen Bereich des Tumors wurden 6 Gesichtsfelder ausgewählt, die sich nicht überschnitten, und die sich in Bereichen mit deutlicher Proliferation befanden. Auch wurde im zentralen Bereich des Tumors eine möglichst genaue Trennung zwischen Epidermis und Dermis vorgenommen, so dass 3 Gesichtsfelder mit ausschließlich epidermaler und 3 Gesichtsfelder mit ausschließlich dermaler Lokalisation ausgewertet werden konnten. Im rechten und linken Randbereich wurden jeweils zwei Gesichtsfelder ausgewählt, wobei in den meist abgeflachten Randbereichen keine sinnvolle Differenzierung zwischen epidermaler und dermaler Proliferation mehr möglich war, so dass hier überlappende dermoepidermale Strukturen betrachtet wurden.

Für die Erfassung der Proliferationsraten wurde ein detaillierter Befundungsbogen erstellt, welcher im Anhang originalgetreu abgebildet ist. Für jeden einzelnen Tumor wurden auf diesem Befundungsbogen neben der Diagnose die einzeln ausgezählten 10 Gesichtsfelder, die durchschnittliche Gesamtproliferation ($\bar{x}$), der Maximal- und Minimalwert der Proliferationsraten (x_{max} und x_{min}), die durchschnittlichen Werte der Proliferationsraten für die einzelnen Bereiche epidermales, dermales Gesichtsfeld und peripher ($\bar{x}_{epidermal}$, $\bar{x}_{dermal}$.und $\bar{x}_{peripher}$) sowie auch das Alter des Patienten festgehalten.

Die Proliferationsrate gibt hierbei den Quotienten aus proliferierenden Melanozyten und nicht proliferiernden Melanozyten wieder.

Zusätzlich wurde bei jedem Präparat der Tumordicke nach Breslow (mm) gemessen sowie die entsprechende Tumorklasse vermerkt.

Durch die oben beschriebene Doppelfärbung MIB-I/Vimentin konnten proliferierende Melanozyten eindeutig von proliferierenden Keratinozyten unterschieden und somit die Erfassung der quantitativen Proliferation präzisiert werden. In jedem Gesichtsfeld wurden alle deutlich mit dem Proliferationsmarker positiv und negativ dargestellten Melanozyten

ausgezählt und ins Verhältnis zueinander gesetzt. Ein deutlich positiv gefärbter proliferierender Melanozyt stellte sich hierbei mit bräunlich-schwarzem Kern und ein ihn umgebendes, durch Vimentin rot gefärbtes, Zytoplasma dar.
Melanozyten ohne Kernfärbung durch den Proliferationsmarker zeigten lediglich ein rötlich gefärbtes Zytoplasma durch Vimentin. Proliferierende Keratinozyten zeigten eine positive Kernfärbung bei ungefärbtem Zytoplasma (siehe Abbildung 4).

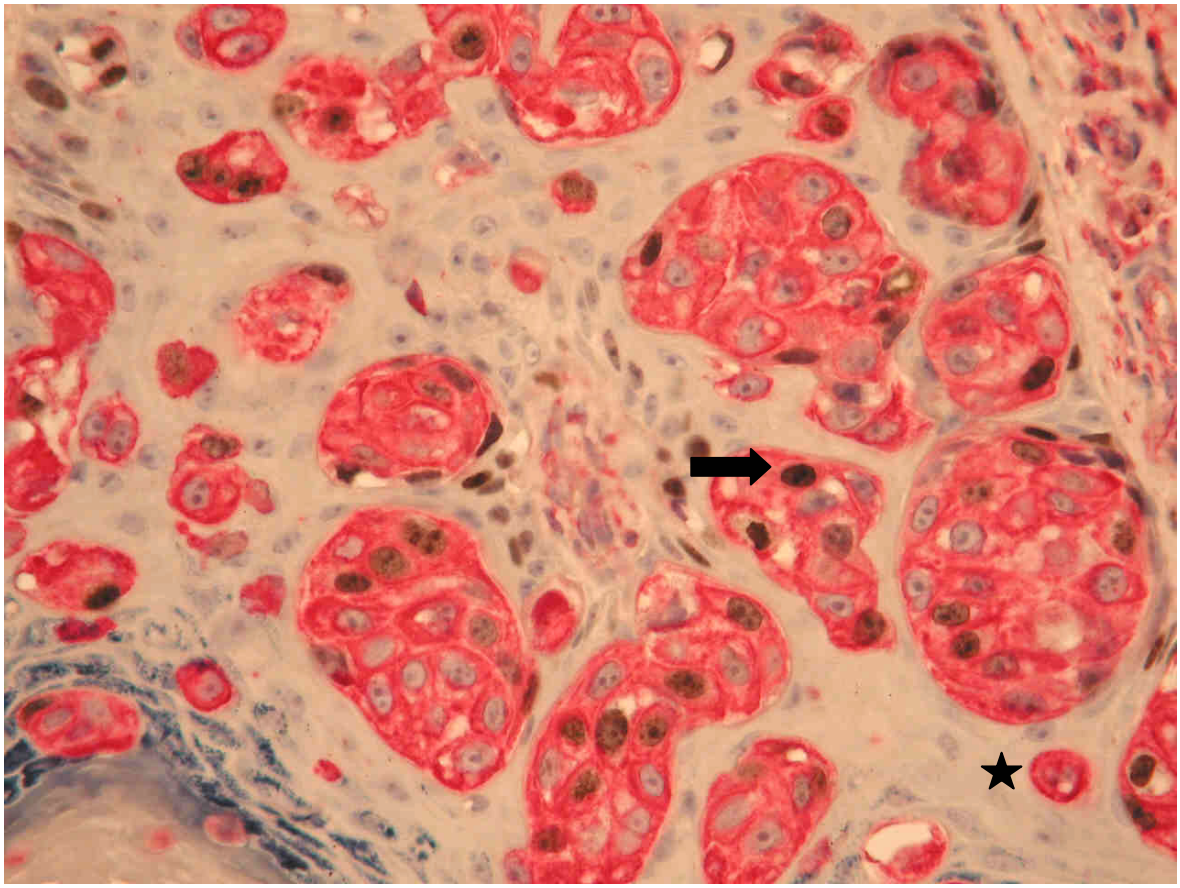


Abbildung 4: Malignes Melanom (16180/01)
Proliferierender Melanozyt mit rotem Zytoplasma und bräunlich-schwarzer Kernfärbung (Pfeil).
Nicht proliferierender Melanozyt mit fehlender Kernfärbung und rotem Zytoplasma (Stern).(Doppelfärbung MIB-I/Vimentin x200)

Bei der immunhistochemischen Färbung mit dem Proliferationsmarker Ki-67 (MIB) alleine färbten sich Kerne der proliferierenden Zellen aufgrund eines anders gewählten Chromogens rot.
Die Differenzierung zwischen proliferierenden Melanozyten und Keratinozyten war hierbei nur anhand morphologischer Unterschiede möglich, da sich die Kerne der Melanozyten und der Keratinozyten identisch anfärbten (siehe Abbildung 5 auf Seite 36).

Der Zeitaufwand für das Auszählen eines solchen Gesichtsfeldes wurde dadurch deutlich erschwert und nahm somit mehr Zeit in Anspruch.

Der Grund für den höheren Zeitaufwand war sicherlich die schwierigere morphologische Differenzierung proliferierender Keratinozyten von proliferierenden Melanozyten.

Die Ergebnisse der Auszählung quantitativer Proliferation wurden von einem zweiten Untersucher stichprobenartig überprüft.

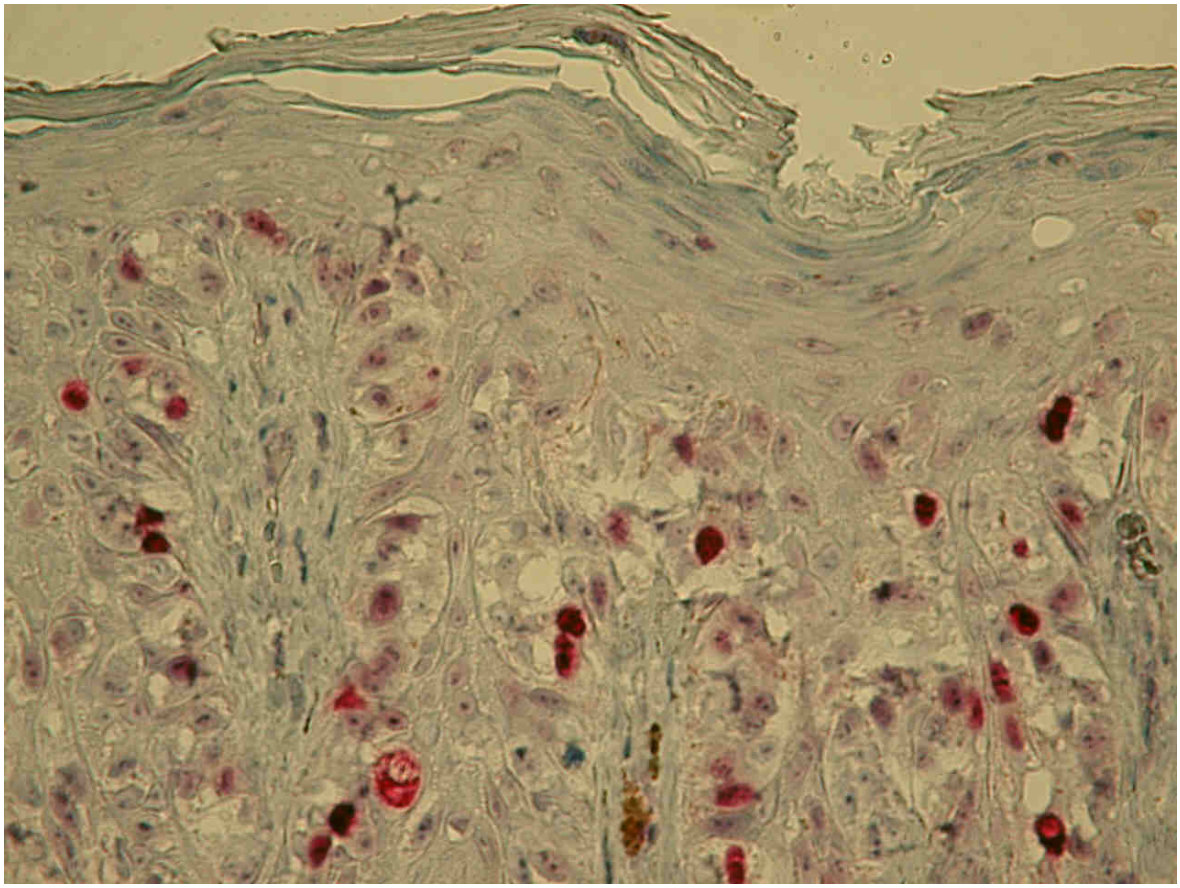


Abbildung 5: „spitzoides“ malignes Melanom (1306/01)

Proliferierende Zellen zeigen eine rote Kernfärbung. Schwierige Differenzierung zwischen Melanozyten und Keratinozyten. (Einzelfärbung mit Anti-Ki-67, Klon MIB-I, x 200).

2.9 Verarbeitung der Daten

Die statistische Aufarbeitung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms STATISTICA 6.1 (StatSoft, Tulsa, USA).

Bezüglich der Fragestellung, welchen Wert Proliferationsraten für die Dignitätsbestimmung haben, wurden zuerst mit Hilfe von Box-Plots die durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsrate der Entitäten Naevus Spitz, „spitzoides" malignes Melanom und Melanom miteinander verglichen. Zur Feststellung signifikanter Unterschiede zwischen diesen drei Entitäten wurde eine ANOVA-Analyse durchgeführt.

Für die Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides" malignes Melanom wurde gesondert ein T-Test unabhängiger Stichproben gemacht.

Desweiteren wurden die Tumoren ohne Berücksichtigung der Dignität auf signifikante Unterschiede bezüglich der drei Bereiche epidermale, dermale und periphere quantitative Proliferation mit Hilfe repeated measures ANOVA untersucht.

Anschliessend wurde ein paarweiser Vergleich der drei Zonen mit einem verbundenem T-Test durchgeführt.

Um die Tumordicke nach Breslow als wichtigsten prognostischen Wert für das maligne Melanom mit einzubeziehen, wurde die Korrelation zwischen diesem und der durchschnittlichen Proliferationsrate, sowie der Proliferationsrate, geschichtet nach den drei Bereichen, untersucht.

Da der Pathologe bzw. Dermatohistopathologe bei der Dignitätsbestimmung in der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides" malignes Melanom häufig das Alter des Patienten in seiner Entscheidung berücksichtigt oder als diagnostisches Kriterium einbezieht, wurde an diesem Kollektiv die Altersabhängigkeit bezüglich der drei Entitäten mit Hilfe von Box-Plots, Mittelwerten und Standardabweichung untersucht und geprüft, ob das Alter in die Dignitätsbestimmung mit einbezogen werden sollte.

In einer Kovarianzanalyse, sowie einem paarweisem Vergleich der drei Entitäten wurde danach erneut unter Berücksichtigung des Alters die Wertigkeit von Proliferationsraten für die Dignitätsbestimmung untersucht.

In einem weiteren Schritt wurde die Altersabhängigkeit der Proliferationsrate untersucht und mit Hilfe von Box-Plots grafisch dargestellt. Das Patientenkollektiv wurde hierfür in zwei Altersgruppen unterteilt, wobei die Altersgrenze bei 25 Jahren lag.

3. ERGEBNISSE

3.1 Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten von Naevus Spitz, „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

Insgesamt wurden in dieser Arbeit 62 melanozytäre Tumore der Entitäten Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom auf ihre quantitative Proliferation untersucht.

Die Tumore wurden, entsprechend ihrem histologischen Typ, 4 Gruppen zugeordnet.

- Naevi Spitz vom junktionalen Typ
- Naevi Spitz vom Compound Typ
- „spitzoides“ malignes Melanom
- malignes Melanom

Der Gruppe „spitzoides“ malignes Melanom wurden nur maligne Melanome zugeordnet, die eine Vielzahl histologischer Kriterien von Spitz Naevi aufwiesen und solche somit imitierten.

Die Gruppe malignes Melanom setzt sich in dieser Untersuchung aus nodulären, superfiziell-spreitenden und Lentigo maligna Melanomen zusammen.

Dermale Naevi Spitz wurden in dieser Arbeit, wie schon zuvor erwähnt, nicht untersucht.

Es wurden die durchschnittliche, minimale und maximale Proliferationsrate eines jeden Tumor ermittelt.

Die durchschnittliche Proliferationsrate beschreibt hierbei den Mittelwert der Proliferationsraten aus den zehn ausgewerteten Gesichtsfeldern eines jeden Tumors. Die maximale Proliferationsrate erfasst die höchste Proliferationsrate innerhalb eines Tumors, während die minimale Proliferationsrate die niedrigste Proliferationsrate erfasst. Zusätzlich erfolgte die Erfassung von Proliferationsraten in unterschiedlichen Bereichen des Tumors.

Bei allen Tumoren, auch bei den Naevi Spitz, wurde die Tumordicke nach Breslow gemessen und das Alter des Patienten erfasst, um mögliche Korrelationen aufzuzeigen.

3.1.1 Naevus Spitz vom junktionalen Typ

Insgesamt wurden 21 Naevi Spitz vom junktionalen Typ auf ihre Proliferationsrate, gemessen mit dem Proliferationsmarker Ki-67 (MIB-I), untersucht.

Die Naevi Spitz vom junktionalen Typ befanden sich fast ausschliesslich in der Tumordickenklasse I (0-0,75 mm).

Die durchschnittliche Proliferationsrate lag in einem Bereich von 4,12% bis 18,89 % mit einem Mittelwert von 11,21%.

Maximale Proliferationsraten lagen zwischen 6,10% und 24,40%, Mittelwert 14,54%. Minimale Proliferationsraten lagen im Bereich von 1,20% bis 14,40%, Mittelwert 6,18%. Für Naevi Spitz vom junktionalen Typ gleicher Tumordickenklasse können somit sowohl für durchschnittliche, minimale und maximale Proliferationsraten große Unterschiede gezeigt werden.

Es ist keine Tendenz zu erkennen, dass mit zunehmender Tumordicke auch die Proliferationsrate ansteigt. Die Tumordicke steht demzufolge beim Naevus Spitz vom junktionalen Typ in keiner Korrelation zur Proliferationsrate (siehe Tabelle 3.3.1 auf Seite 40).

Päparat	Tumordicke (mm)	Proliferationsrate (%)		
		durchschnittliche	maximale	minimale
7036/00	0,23	13,03	19,80	9,50
21895/00	0,29	8,71	12,20	5,50
15774/00	0,30	8,26	10,40	5,70
13131/99	0,32	4,12	6,10	3,00
2633/99	0,35	10,25	15,30	6,70
1868/96	0,35	6,04	9,90	2,30
1948/99	0,40	10,39	15,60	5,30
8867/99	0,40	13,10	15,70	10,40
18986/99	0,45	18,89	24,40	14,40
14309/00	0,45	10,90	16,50	3,80
1182/01	0,45	6,38	8,60	5,20
212/01	0,45	6,29	8,60	4,90
13375/99	0,50	13,83	19,10	9,20
14922/00	0,50	10,66	16,10	6,20
21227/00	0,50	5,96	9,40	4,20
2302/99	0,50	12,05	15,84	8,60
6672/99	0,50	6,76	9,70	1,50
5935/00	0,50	8,49	15,20	1,20
11458/00	0,55	15,51	24,30	8,10
3816/99	0,70	7,08	12,40	3,30
7433/99	0,85	16,17	20,20	10,70

Tabelle 3.1.1:
Naevus Spitz vom junktionalen Typ: Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke nach Breslow.
Tabellarische Auflistung 21 untersuchter Naevi Spitz vom junktionalen Typ, bei denen jeweils anhand eines histologischen Gewebeschnittes durch Auswertung von 10 über den Tumor verteilten Gesichtsfeldern durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten (%) ermittelt wurden. Es zeigt sich keine Korrelation zwischen Tumordicken (mm) und Proliferationsraten (%).

3.1.2 Naevus Spitz vom Compound-Typ

Es sind insgesamt 18 Naevi Spitz vom Compound-Typ untersucht worden.

Von den 18 Tumoren befanden sich 13 in der Tumordickenklasse I (0-0,75 mm), 4 Tumore in der Klasse II (0,75-1,5 mm) und 1 Tumor in der Klasse III (1,5-4,0 mm). Die durchschnittliche Proliferationsrate lag im Bereich von 4,22% bis 12,57% mit einem Mittelwert von 7,74%.

Die maximalen Proliferationsraten lagen in einem Bereich von 6,40% bis 20,00%, Mittelwert 12,63%.

Die minimalen Proliferationsraten lagen zwischen 0,80% und 10,50% mit einem Mittelwert von 3,772%

Somit kann auch für Naevi Spitz vom Compound-Typ gezeigt werden, dass innerhalb dieser Gruppe große Unterschiede bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten bestehen.

Es lässt sich ebenfalls zeigen, dass auch hier keine Korrelation mit der Tumordicke nach Breslow besteht. Naevi Spitz vom Compound-Typ der Tumordickenklasse II zeigen keinen Unterschied bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten verglichen mit Naevi Spitz der Tumordickenklasse I.

Es zeigt sich keine Tendenz, dass mit zunehmender Tumordicke auch die Proliferationsrate ansteigt. Die Tumordicke hat auch hier keinen Einfluss auf die Proliferation (siehe Tabelle 3.1.2 auf Seite 41).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	durchschnittliche	maximale	minimale
13569/99	0,30	9,16	12,30	4,50
11451/99	0,34	8,99	15,00	5,20
23273/98	0,35	6,06	8,90	4,70
20072/98	0,45	6,69	8,40	1,30
17495/00	0,51	5,83	7,30	3,80
22955/98	0,54	6,76	13,00	3,20
11659/00	0,56	6,89	13,60	1,50
12161/98	0,60	12,57	17,80	10,50
15762/00	0,61	6,21	9,90	3,10
1191/96	0,63	9,80	13,20	6,40
10634/00	0,65	9,26	14,40	6,20
13880/99	0,65	9,11	14,50	1,90
11278/98	0,75	6,51	20,00	0,80
386/99	0,80	5,70	11,30	1,90
24419/00	0,85	6,54	9,70	3,20
9788/99	0,93	6,50	13,00	1,80
6710/00	1,00	4,22	6,40	1,90
10039/98	1,60	12,43	18,60	6,00

Tabelle 3.1.2:
Naevus Spitz vom Compound-Typ: Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke nach Breslow.
Tabellarische Auflistung 18 untersuchter Naevi Spitz vom Compound-Typ, bei denen jeweils anhand eines histologischen Gewebeschnittes durch Auswertung von 10 über den Tumor verteilten Gesichtsfeldern durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten (%) ermittelt wurden. Es zeigt sich keine Korrelation zwischen Tumordicken (mm) und Proliferationsraten (%).

3.1.3 „Spitzoides“ malignes Melanom

Insgesamt wurden 12 „spitzoide“ maligne Melanome auf ihre Proliferationsraten untersucht. Von den „spitzoiden“ malignen Melanomen waren 10 in der Tumordickenklasse I (0-0,75 mm) und 2 in der Tumordickenklasse II (0,75-1,5 mm).
In den untersuchten Kollektiven konnte kein „spitzoides“ malignes Melanom der Tumordickenklasse III (1,5-4 mm) gefunden werden.
Die durchschnittlichen Proliferationsraten lagen zwischen 5,55% und 19,94% mit einem Mittelwert von 10,79%.
Die maximalen Proliferationsraten lagen zwischen 7,70% und 30,80%, der Mittelwert bei 15,68%.
Die minimalen Proliferationsraten lagen zwischen 1,40% und 13,60% mit einem Mittelwert von 6,56%. Es zeigen sich somit auch bei den „spitzoiden“ malignen Melanomen innerhalb einer Tumorklasse große Unterschiede bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten.
Es ist keine Tendenz zu erkennen, dass mit zunehmender Tumordicke auch die Proliferationsrate ansteigt. Die Tumordicke zeigt somit keine Korrelation mit der Proliferation (siehe Tabelle 3.1.3 auf Seite 42).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	durchschnittliche	maximale	minimale
982/98	0,27	18,84	21,00	13,60
16375/99	0,30	8,55	13,20	5,80
8514/96	0,30	5,93	9,70	1,40
10929/00	0,33	6,55	9,80	4,30
6349/99	0,40	8,21	13,40	3,30
658/01	0,40	10,03	12,20	5,70
1442/99	0,50	5,55	7,70	3,40
14054/00	0,50	16,79	25,50	10,90
1509/00	0,60	6,91	9,10	4,50
1306/01	0,70	19,94	30,80	10,70
14824/00	1,00	8,30	18,20	3,40
11362/00	1,20	13,93	17,50	11,70

Tabelle 3.1.3:
„Spitzoides“ malignes Melanom: Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke nach Breslow.
Tabellarische Auflistung 12 untersuchter „spitzoider“ maligner Melanome, bei denen anhand eines histologischen Gewebeschnittes jeweils durch Auswertung von 10 über den Tumor verteilten Gesichtsfeldern durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten (%) ermittelt wurden. Es zeigt sich keine Korrelation zwischen Tumordicken (mm) und Proliferationsraten (%).

3.1.4 Malignes Melanom

Es wurden 11 maligne Melanome auf ihre durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten untersucht.

4 Melanome befanden sich in der Tumordickenklasse II (0,75-1,5 mm), 7 Melanome in der Tumordickenklasse III (1,5-4 mm).

Die durchschnittlichen Proliferationsraten lagen zwischen 12,09% und 40,84% mit einem Mittelwert von 21,1%.

Die maximalen Proliferationsraten lagen in einem Bereich von 15,8% bis 63,40% mit einem Mittelwert von 31,38%.

Die minimalen Proliferationsraten lagen zwischen 3,0% und 21,10% mit einem Mittelwert bei 11,45%.

Die malignen Melanome zeigen bis auf einige wenige Ausnahmen sehr hohe Werte sowohl für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten.

Es ist jedoch auch bei den Melanomen keine Tendenz zu erkennen, dass mit zunehmender Tumordicke auch die Proliferationsraten ansteigen.

Die Tumordicke zeigt keine Korrelation mit der Proliferation. (siehe Tabelle 3.1.4 auf Seite 43).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	durchschnittliche	maximale	minimale
11001/01	1,00	12,85	21,70	4,50
11392/00	1,00	12,73	15,80	8,10
8167/00	1,20	15,28	24,60	3,80
9674/98	1,30	28,20	36,00	18,40
16180/01	1,55	16,88	25,40	8,90
23585/99	2,00	12,09	25,30	3,00
522/00	2,00	30,82	45,20	17,80
19761/00	2,10	15,26	22,30	9,20
15156/99	3,00	23,39	27,60	17,70
7612/01	4,10	40,84	63,40	21,10
13962/01	5,20	23,27	37,90	13,30

Tabelle 3.1.4:
Malignes Melanom: Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke nach Breslow.
Tabellarische Auflistung 11 untersuchter maligner Melanome, bei denen anhand eines histologischen Gewebeschnittes jeweils durch Auswertung von 10 über den Tumor verteilten Gesichtsfeldern durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten (%) ermittelt wurden.
Es zeigt sich keine Korrelation zwischen Tumordicken (mm) und Proliferationsraten (%).

3.2 Vergleich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten von Naevus Spitz, „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

3.2.1 Durchschnittliche Proliferationsraten

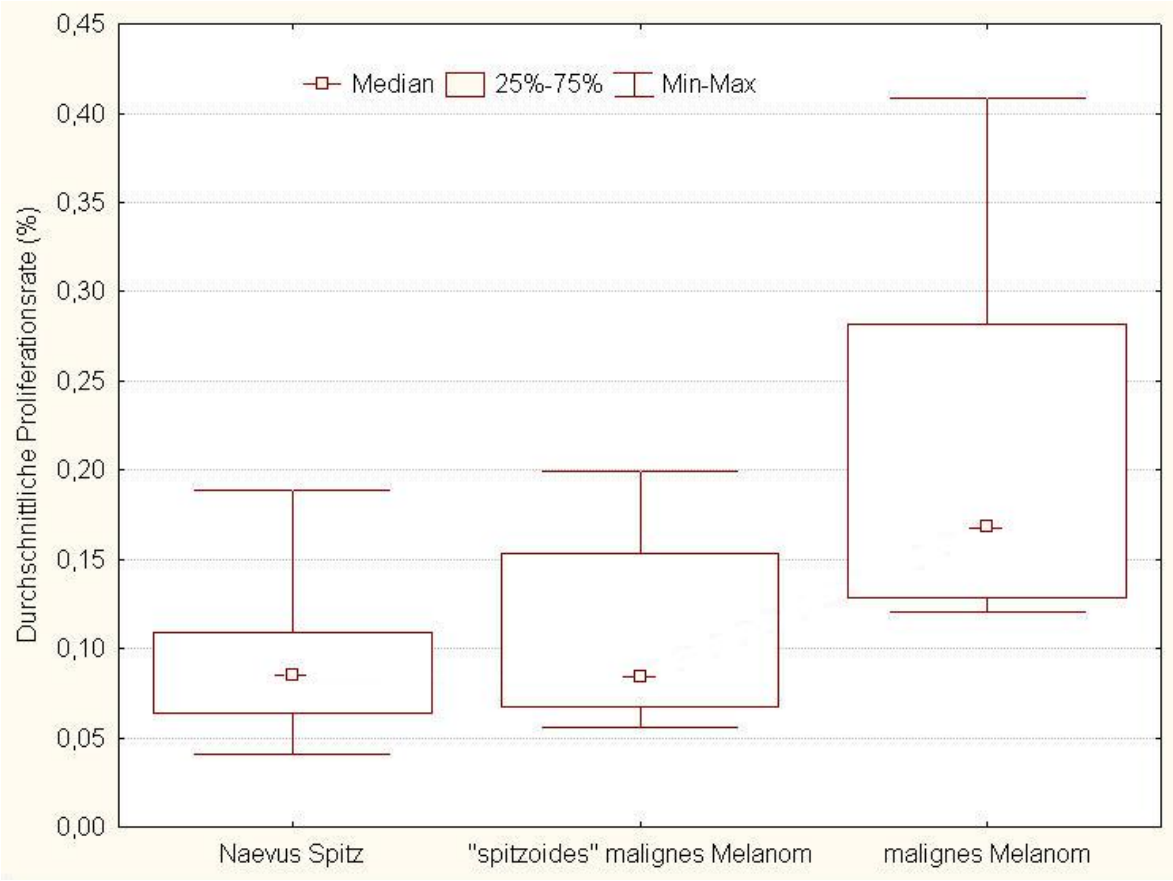


Abbildung 6:
Darstellung durchschnittlicher Proliferationsraten der Tumoren Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom in Box-Plots. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der durchschnittlichen Proliferationsraten von Naevi Spitz (Mittelwert: $\overline{x}$ = 8,95; Standardabweichung: s = 3,45) zu malignen Melanomen (Mittelwert: $\overline{x}$ = 21,06; Standardabweichung: s = 9,22) bezüglich Minimalwert, Maximalwert sowie dem Median.
Naevi Spitz und „spitzoide“ maligne Melanome (Mittelwert: $\overline{x}$ = 10,79; Standardabweichung: s = 5,20) zeigen in durchschnittlichen Proliferationsraten bezüglich Minimalwert, Maximalwert sowie dem Median annähernd identische Ergebnisse.

3.2.1.1 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom

Die Box-Plots in Abbildung 6 auf Seite 44 zeigen einen deutlichen Anstieg der durchschnittlichen Proliferationsraten vom Naevus Spitz zum malignen Melanom.
Die Maximal- und Minimalwerte, sowie der Median von Naevi Spitz unterscheiden sich stark von den entsprechenden Werten des malignen Melanoms. Bezüglich der Proliferationsraten lassen sich für den Minimalwert ca. 0,08%-, für den Median ca. 0,09%- sowie für den Maximalwert ca. 0,22%-Punkte Unterschied zeigen.
Die Überschneidung der Interquantilabstände ist gering.
Der Bereich von 0,12-0,185% durchschnittlicher Proliferationsraten stellt eine Grauzone dar, in der sich Tumoren unterschiedlicher Dignität befinden. Eine Dignitätszuordnung mit Hilfe von durchschnittlicher Proliferationsrate ist in diesem Bereich somit nicht möglich.

3.2.1.2 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom

Bezüglich durchschnittlicher Proliferationsraten lässt sich zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom kaum ein Unterschied zeigen. Der Median ist annähernd identisch und auch im Minimal- und Maximalwert sind kaum Unterschiede vorhanden. Lediglich das 75 % Quantil vom „spitzoidem“ malignen Melanom liegt höher, wohingegen 25 % der Werte vom „spitzoidem“ malignen Melanom und Naevus Spitz unterhalb von 0,07 Prozentpunkten liegen.
Im Bereich von ca. 0,06% bis 0,18% durchschnittlicher Proliferationsraten stellt sich eine Grauzone dar, in der sich die Mehrzahl der untersuchten Naevi Spitz und „spitzoiden“ malignen Melanome trotz unterschiedlicher Dignität befinden. Eine Dignitätszuordnung mit Hilfe durchschnittlicher Proliferationsraten ist somit in diesem Bereich nicht möglich (siehe Abbildung 6 auf Seite 44).

3.2.1.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

„Spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom unterscheiden sich deutlich bezüglich Median, Maximal- und Minimalwert sowie dem Interquantilabstand voneinander.

Es zeigt sich ein Anstieg des Medians um ca. 0,09%-Punkte vom „spitzoiden“ malignen Melanom zum malignen Melanom. Die Gruppe der malignen Melanome zeigt einen deutlich höheren Maximal- und Minimalwerte als die Gruppe der „spitzoiden“ malignen Melanome. Der Interquantilabstand der malignen Melanome ist breiter und befindet sich in einem höheren Bereich durchschnittlicher Proliferationsraten. Die Interquantilabstände der „spitzoiden“ malignen Melanome und malignen Melanome überlappen in einem Bereich von ca 0,13-0,16 % durchschnittlicher Proliferationsraten.

Es kann festgestellt werden, dass in dieser Untersuchung maligne Melanome in der Mehrzahl der Fälle höhere durchschnittliche Proliferationsraten zeigen, sich jedoch auch in einem Bereich von 0,12-0,20 %-Punkten überschneiden. In diesem Bereich kann also nicht mit Hilfe durchschnittlicher Proliferationsraten zwischen „spitzoidem“ malignem Melanom und malignem Melanom unterschieden werden (siehe Abbildung 6 auf Seite 44).

3.2.2 Maximale Proliferationsraten

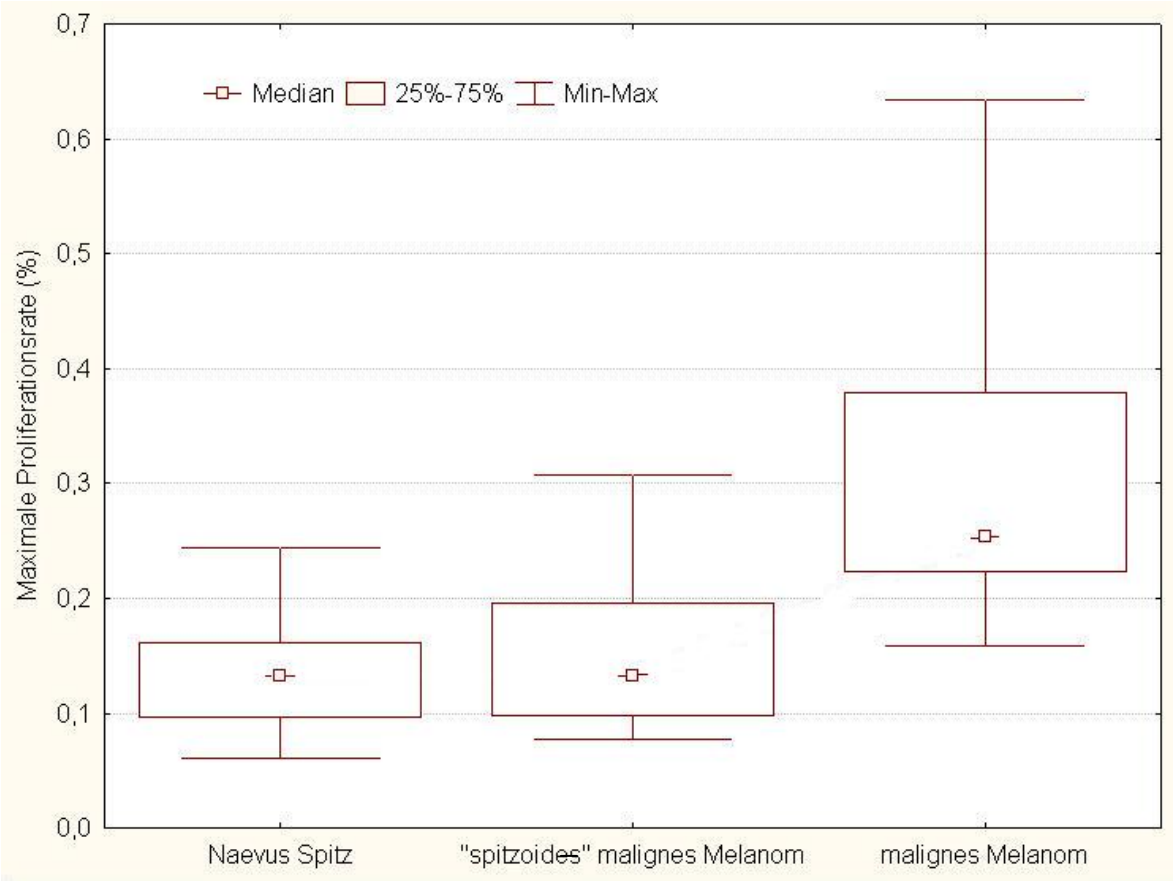


Abbildung 7:
Darstellung maximaler Proliferationsraten der Tumoren Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom in Box-Plots. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der durchschnittlichen Proliferationsraten von Naevi Spitz (Mittelwert: $\overline{x}$ = 13,66; Standardabweichung: s = 4,61) zu malignen Melanomen (Mittelwert: $\overline{x}$ = 31,38; Standardabweichung: s = 13,54) bezüglich Minimalwert, Maximalwert sowie dem Median.
Naevi Spitz und „spitzoide“ maligne Melanome (Mittelwert: $\overline{x}$ = 15,68; Standardabweichung: s = 7,16) zeigen in durchschnittlichen Proliferationsraten bezüglich Minimalwert, Maximalwert sowie dem Median annähernd identische Ergebnisse.

3.2.2.1 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom

Die Box-Plots in Abbildung 7 auf Seite 47 zeigen einen deutlichen Anstieg der maximalen Proliferationsraten von Naevus Spitz zum malignen Melanom.

Maximal- und Minimalwerte, sowie Median von Naevus Spitz unterscheiden sich stark zu den entsprechenden Werten des malignen Melanoms.

Bezüglich der maximalen Proliferationsrate lassen sich für den Minimalwert ca. 0,1%-, für den Median ca. 0,12%- sowie für den Maximalwert ca. 0,39%-Punkte Unterschied zeigen. Es gibt keine Überschneidung der Interquantilabstände.
Der Bereich von 0,16-0,24% maximaler Proliferationsraten stellt eine Grauzone dar, in der sich Tumoren unterschiedlicher Dignität befinden. Eine Dignitätszuordnung mit Hilfe von maximaler Proliferationsrate ist in diesem Bereich somit nicht möglich.

3.2.2.2 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom

Bezüglich maximaler Proliferationsraten lässt sich zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom kaum ein Unterschied zeigen. Der Median und Minimalwert beider sind annähernd identisch und unterscheiden sich kaum voneinander. Der Maximalwert des „spitzoiden“ malignen Melanoms liegt 0,07%-Punkte über dem Maximalwert des Naevus Spitz. Der Interquantilabstand vom „spitzoiden“ malignen Melanom ist größer. Der 75% Werte des „spitzoiden“ malignen Melanoms liegt 0,03% höher als der entsprechende 75% Wert des Naevus Spitz. Der 25% Wert des „spitzoiden“ malignen Melanoms und Naevus Spitz sind identisch und liegen bei 0,1%.
Im Bereich von ca. 0,07% bis 0,24% maximaler Proliferationsraten stellt sich eine Grauzone dar, in der sich die Mehrzahl der untersuchten Naevus Spitz und „spitzoiden“ malignen Melanome trotz unterschiedlicher Dignität befinden. Eine Dignitätszuordnung mit Hilfe maximaler Proliferationrate ist somit in diesem Bereich nicht möglich (siehe Abbildung 7 auf Seite 47).

3.2.2.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

„Spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom unterscheiden sich deutlich bezüglich Median, Maximal- und Minimalwert sowie dem Interquantilabstand voneinander.
Es zeigt sich ein Anstieg des Medians um ca. 0,12%-Punkte vom „spitzoiden“ malignen Melanom zum malignen Melanom. Die Gruppe der malignen Melanome zeigt einen deutlich höheren Maximal- und Minimalwerte als die Gruppe der „spitzoiden“ malignen

Melanome. Der Interquantilabstand der malignen Melanome ist breiter und befindet sich in einem höheren Bereich maximaler Proliferationsraten. Die Interquantilabstände beider Tumore überlappen sich nicht.

Es kann festgestellt werden, dass in dieser Untersuchung maligne Melanome in der Mehrzahl der Fälle höhere maximale Proliferationsraten als „spitzoide“ maligne Melanome haben. Es zeigt sich jedoch auch, dass in einem Bereich von 0,16-0,31%-Punkten Überlappungen auftreten. In diesem Bereich liegen sowohl „spitzoide“ maligne Melanome als auch maligne Melanome. Es kann in diesem Bereich also nicht mit Hilfe maximaler Proliferationsrate zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom und malignen Melanom unterschieden werden (siehe Abbildung 7 auf Seite 47).

3.2.3 Minimale Proliferationsraten

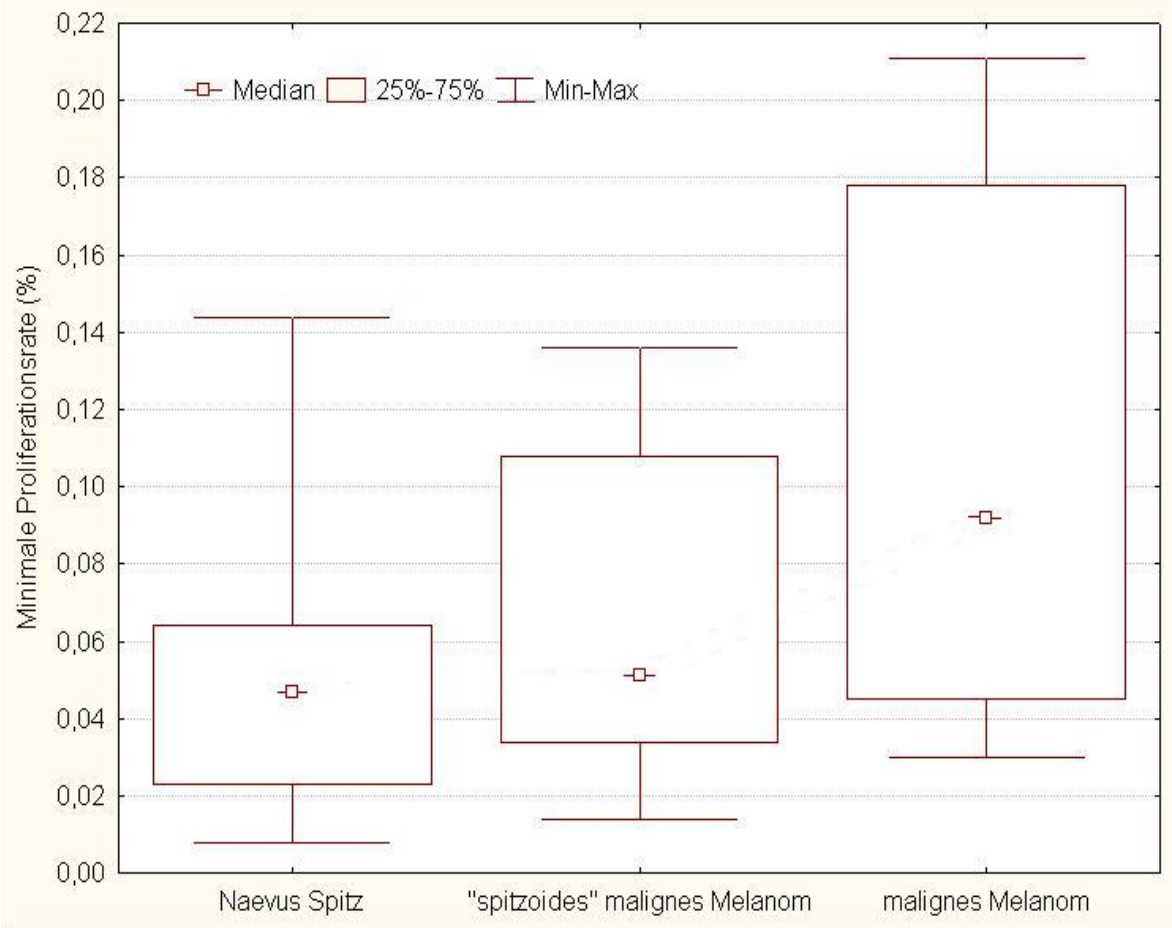


Abbildung 8:
Darstellung minimaler Proliferationsraten der Tumoren Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom in Box-Plots. Es zeigt sich ein Anstieg der minimalen Proliferationsraten von Naevi Spitz (Mittelwert: $\overline{x}$ = 5,07; Standardabweichung: s = 3,19) zu malignen Melanomen (Mittelwert: $\overline{x}$ = 11,44; Standardabweichung: s = 6,52).
Naevi Spitz und „spitzoide“ maligne Melanome (Mittelwert: $\overline{x}$ = 6,56; Standardabweichung: s = 4,04) zeigen in minimalen Proliferationsraten annähernd identische Ergebnisse.

3.2.3.1 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom

In den Box-Plots in Abbildung 8 auf Seite 50 zeigen sich Unterschiede im Maximal- und Minimalwert, dem Median und dem Interquantilabstand. Alle Werte des Naevus Spitz liegen unterhalb der entsprechenden Werte des malignen Melanoms. Die Unterschiede bezüglich Maximal- und Minimalwert sind jedoch geringer als bei den Box-Plots für durchschnittliche und maximale Proliferationsraten (Abbildung 6 und 7 auf Seite 44 und

47). Der Median zeigt einen Unterschied von ca. 0,05% Punkten vom Naevus Spitz zum malignem Melanom, wobei sich die Interquantilabstände bei 0,05%-0,06% überschneiden. Eine Grauzone besteht zwischen 0,03-0,15%, in der sich sowohl Naevus Spitz als auch maligne Melanome befinden. In diesem Bereich ist also mit Hilfe minimaler Proliferationsrate keine Unterscheidung zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom möglich.

3.2.3.2 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom

Es zeigen sich kaum Unterschiede zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom. Median, Minimal- und Maximalwert sind annähernd identisch. Der Interquantilabstand des „spitzoidem“ malignen Melanoms ist deutlich größer und zeigt höhere Proliferationsraten. Die Interquantilabstände überschneiden sich jedoch im Bereich niedrigerer Proliferationsraten von 0,04%-0,06%.
Eine Unterscheidung zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom mittels minimaler Proliferationsrate ist auch hier nicht möglich, da es Überschneidungen in einem Bereich von 0,02-0,14% gibt, in denen beide Tumore trotz unterschiedlicher Dignität liegen (siehe Abbildung 8 auf Seite 50).

3.2.3.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

Es zeigen sich Unterschiede bezüglich Maximal- und Minimalwert sowie dem Median. Der Median in der Gruppe der malignen Melanome ist 0,04% Punkte höher als der Median der Gruppe der „spitzoiden“ malignen Melanome. Auch der Interquantilabstand der malignen Melanom-Gruppe ist größer und zeigt deutlich höhere Proliferationsraten. In einem Bereich von 0,05-0,11% überschneiden sich beide Interquantilabstände. Minimal- und Maximalwert der malignen Melanome zeigen höhere Proliferationsraten.
Im Bereich von 0,03-0,14% gibt es Überschneidungen zwischen Werten minimaler Proliferationsraten der Gruppen „spitzoider“ maligner Melanome und maligner Melanome. In diesem Bereich ist eine Unterscheidung zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom mit Hilfe minimaler Proliferationsrate somit nicht möglich (siehe Abbildung 8 auf Seite 50).

3.2.4 Zusammenfassung der Vergleiche

Betrachtet man die Box-Plots in den Abbildungen 6, 7 und 8 (Seite 44, 47 und 50), so zeigt sich ein ähnlicher Trend bei den drei Zielvariablen durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationraten.

Mit Hilfe der Messung von durchschnittlicher, maximaler oder minimaler Proliferationsraten ist es aufgrund fehlender Unterschiede nicht möglich zwischen einem (benignen) Naevus Spitz und einem „spitzoidem“ malignen Melanom zu unterscheiden. Die Spannweite ist bei den 3 betrachteten Zielkriterien ähnlich. Der einzige Unterschied besteht darin, dass beim Naevus Spitz ein größeres Gewicht auf der oberen Hälfte der Proliferationsratenverteilung liegt.

Selbst eine Unterscheidung zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom kann nicht mit Sicherheit getroffen werden, da ebenfalls Grauzonen bestehen, in denen sich beide Tumore trotz unterschiedlicher Dignität und unterschiedlichem biologischem Verhalten finden. Es lässt sich jedoch grafisch eindeutig zeigen, dass generell die Gruppe der malignen Melanome im Vergleich zur Gruppe der Naevi Spitz und auch der „spitzoiden“ malignen Melanome höhere Proliferationsraten aufweist.

Trotz angenommener gleicher Dignität mit dem malignen Melanom, verhält sich das „spitzoide“ maligne Melanom bezüglich untersuchter Proliferationsraten jedoch eher wie ein Naevus Spitz. Eine Mittelstellung zwischen Naevus Spitz und malignen Melanom kann dem „spitzoidem“ malignen Melanom nach diesem Kriterium somit nicht eingeräumt werden.

3.2.5 Tests

In einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit dem Faktor Dignität konnte gezeigt werden, dass ein signifikanter Einfluss der Melanomart auf die Proliferation besteht. Dies gilt für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten ($p<0,001$).

In t-Tests für unabhängige Stichproben wurden die Tumoren Naevus Spitz, „spitzoides" malignes Melanom und malignes Melanom bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten einzeln miteinander verglichen.

3.2.5.1 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem" malignen Melanom

Beim Vergleich zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem" malignem Melanom wurde ein p-Wert = 0,177 für durchschnittliche, ein p-Wert = 0,254 für maximale und ein p-Wert = 0,190 für minimale Proliferationsraten errechnet.
Somit lässt sich zeigen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem" malignen Melanom bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten besteht.

3.2.5.2 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom

Beim Vergleich zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom konnte sowohl für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten ein p-Wert < 0,001 errechnet werden.
Somit lässt sich zeigen, dass ein signifikanter Unterschied zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferations-rate besteht.

3.2.5.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

Beim Vergleich zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom konnte sowohl für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsrate ein p-Wert < 0,05 errechnet werden. (p=0,003 für durchschnittliche Proliferationsrate, p=0,002 für maximale Proliferationsrate, p=0,041 für minimale Proliferationsrate)

Somit lässt sich zeigen, dass ein signifikanter Unterschied zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom bezüglich durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsrate besteht.

3.3 Proliferationsraten in den Bereichen zentral-tief, zentral-oberflächlich und peripher für Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom

Es wurde die durchschnittliche Proliferationsrate in ausgewählten Bereichen ermittelt.

Dabei wurden die Tumore in die Bereiche zentral-oberflächlich, zentral-tief sowie peripher eingeteilt.

Zentral-oberflächlich umschreibt hierbei drei Gesichtsfelder, hauptsächlich zentrale, epidermale Teile des Tumors. Ebenfalls drei Gesichtsfelder beschreiben den Bereich zentral-tief. Dieser stellt meist die dermo-epidermale Zone mit deutlich stärkerer Betonung der Dermis dar.

Der Bereich peripher beschreibt insgesamt 4 Gesichtsfelder, die randbildend in dem Tumor sind (zwei rechts, zwei links). Hierbei handelt es sich hauptsächlich um epidermale Teile, da die Tumore im Randbereich doch stark abflachen.

3.3.1 Naevus Spitz vom junktionalen Typ

Es zeigt sich, bezogen auf Proliferationraten in den unterschiedliche Bereichen, dass keine Vereinheitlichung der Naevi Spitz vom junktionalen Typ einer Tumordickenklasse möglich ist. Es kann auch keine Aussage getroffen werden in welchem Bereich Naevi Spitz vom junktionalen Typ vorzugsweise proliferieren (siehe Tabelle 3.3.1 auf Seite 55).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	zentr.-oberfl.	zentr.-tief	peripher
7036/00	0,23	15,13	13,90	10,07
21895/00	0,29	7,23	9,43	9,47
15774/00	0,30	9,33	6,83	-----
13131/99	0,32	3,53	3,90	5,65
2633/99	0,35	9,98	9,40	11,47
1868/96	0,35	8,30	6,40	2,67
1948/99	0,40	11,40	6,83	12,60
8867/99	0,40	13,67	12,53	-----
18986/99	0,45	16,83	21,30	19,40
14309/00	0,45	14,13	9,73	8,83
1182/01	0,45	6,38	6,00	6,77
212/01	0,45	5,60	6,00	7,50
13375/99	0,50	15,33	11,10	14,57
14922/00	0,50	13,15	8,97	9,03
21227/00	0,50	6,20	6,43	5,17
2302/99	0,50	13,43	10,20	12,53
6672/99	0,50	7,88	7,40	4,63
5935/00	0,50	10,83	5,53	8,33
11458/00	0,55	20,30	11,50	13,13
3816/99	0,70	5,35	5,53	10,93
7433/99	0.85	15,85	16,40	16,37

Tabelle 3.3.1:
Naevus Spitz vom junktionalen Typ: Regionale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke
Die regionalen Proliferationsraten (%) der 21 aufgelisteten Naevi Spitz vom junktionalen Typ, untersucht an jeweils einem histologischen Gewebeschnitt, zeigen kein Proliferationszentrum für diesen Tumortyp.

3.3.2 Naevus Spitz vom Compound-Typ

Die Untersuchung der drei Bereiche: peripher, zentral-oberlächlich und zentral-tief erfolgte nach dem gleichen Schema wie für die Naevi Spitz vom junktionalen Typ.
Es ließ sich weder für die Naevi Spitz der Tumordickenklassen I noch der Tumordicken-klasse II zeigen, in welchem der Bereiche vornehmlich Proliferation stattfindet.
Da die Bereiche peripher und zentral-oberflächlich allerdings hauptsächlich epidermale Teile und zentral-tief dermale Teile des Tumors erfassen, scheint die Tendenz zu bestehen, dass Proliferation eher epidermal stattfindet (siehe Tabelle 3.3.2 auf Seite 56).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	zentr.-oberfl.	zentr.-tief	peripher
13569/99	0,30	10,05	10,40	6,73
11451/99	0,34	12,20	5,63	8,06
23273/98	0,35	6,53	6,07	5,43
20072/98	0,45	7,80	6,47	5,43
17495/00	0,51	5,48	5,57	6,57
22955/98	0,54	9,38	4,30	5,73
11659/00	0,56	11,05	5,30	2,93
12161/98	0,60	11,88	15,23	16,25
15762/00	0,61	7,13	7,40	3,80
1191/96	0,63	8,70	10,30	10,80
10634/00	0,65	9,68	8,70	-----
13880/99	0,65	8,95	11,77	6,67
11278/98	0,75	5,50	12,83	1,57
386/99	0,80	4,00	7,90	5,77
24419/00	0,85	7,80	6,63	5,73
9788/99	0,93	10,67	5,90	2,73
6710/00	1,00	4,10	5,53	3,07
10039/98	1,60	13,80	16,10	8,17

Tabelle 3.3.2:
Naevus Spitz vom Compound-Typ: Regionale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke
Die regionalen Proliferationsraten (%) der 18 aufgelisteten Naevi Spitz vom Compound-Typ, untersucht an jeweils einem histologischen Gewebeschnitt, zeigen kein vereinheitlichbares Proliferationszentrum für diesen Tumortyp.

3.3.3 „Spitzoides“ malignes Melanom

Bei der Betrachtung der regionalen Proliferationsraten „spitzoider“ maligner Melanome konnte kein einheitlicher Bereich für Proliferationsmaxima gezeigt werden.

Höhere Proliferationraten finden sich jedoch vermehrt epidermal als dermal, ähnlich dem Naevus Spitz vom Compound-Typ.

Bei Betrachtung der Messergebnisse in Tabelle 3.3.3 erkennt man keinen Trend, dass mit wachsender Tumordicke die Proliferation zunimmt (siehe Tabelle 3.3.3 auf Seite 57).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	zentr.-oberfl.	zentr.-tief	peripher
982/98	0,27	19,55	18,37	-----
16375/99	0,30	6,63	10,80	7,70
8514/96	0,30	5,18	6,83	-----
10929/00	0,33	8,10	5,43	5,60
6349/99	0,40	7,88	10,57	6,30
658/01	0,40	8,95	11,47	-----
1442/99	0,50	6,13	4,87	5,67
14054/00	0,50	15,60	13,70	21,47
1509/00	0,60	5,80	8,47	6,83
1306/01	0,70	18,95	27,60	13,60
14824/00	1,00	6,43	11,13	7,03
11362/00	1,20	14,65	14,17	12,73

Tabelle 3.3.3:
„Spitzoides“ malignes Melanom: Regionale Proliferationsraten geordnet nach Tumordicke
Die regionalen Proliferationsraten (%) der 12 aufgelisteten „spitzoiden“ malignen Melanome, untersucht an jeweils einem histologischen Gewebeschnitt, zeigen kein vereinheitlichbares Proliferationszentrum für diesen Tumortyp.

3.3.4 Malignes Melanom

Es lässt sich auch bei den malignen Melanomen nicht zeigen, in welchem der drei Bereiche die größte Proliferationsrate zu erwarten ist.

Die Proliferationsraten liegen für den Bereich peripher zwischen 9,18% und 38,18%, für den Bereich zentral-oberflächlich zwischen 10,80% und 57,83% und für den Bereich zentral-tief zwischen 6,03% und 27,43%.

Die Mittelwerte der Proliferationsraten für peripher und zentral-oberflächlich unterscheiden sich kaum (22,6% vs. 22,7%), da beide Bereiche auch hauptsächlich epidermale Proliferation erfassen.

Dermale Anteile der malignen Melanome zeigen einen niedrigeren Mittelwert der Proliferationsraten von 16,35%.

Es treten jedoch starke Überschneidungen von Proliferationsraten unterschiedlicher Bereiche auf, so dass keine Aussage bezüglich eines Proliferationszentrums in malignen Melanomen gemacht werden kann (siehe Tabelle 3.3.4 auf Seite 58).

		Proliferationsrate (%)		
Päparat	Tumordicke (mm)	zentr.-oberfl.	zentr.-tief	peripher
11001/01	1,00	17,70	13,20	6,03
11392/00	1,00	11,90	11,57	13,80
8167/00	1,20	9,18	21,97	16,73
9674/98	1,30	26,25	30,90	-----
16180/01	1,55	20,30	18,10	12,23
23585/99	2,00	13,08	10,80	12,07
522/00	2,00	38,18	24,73	27,07
19761/00	2,10	18,33	15,43	11,00
15156/99	3,00	23,88	25,17	20,97
7612/01	4,10	38,15	57,83	27,43
13962/01	5,20	31,08	20,10	16,03

Tabelle 3.3.4:
Malignes Melanom: Regionale Proliferationraten geordnet nach Tumordicke
Die regionalen Proliferationsraten (%) der 11 aufgelisteten malignen Melanome, untersucht an jeweils einem histologischen Gewebeschnitt, zeigen kein vereinheitlichbares Proliferationszentrum für diesen Tumortyp.

3.4 Vergleich der drei Bereiche zentral-tief, zentral-oberflächlich und peripher

Ohne Berücksichtigung der Dignität kann mit Hilfe des „repeated measures“ ANOVA-Tests (p-Wert <0,001) auf einen Unterschied bezüglich der verschiedenen Bereiche geschlossen werden.

Beim paarweisen Vergleich der drei Bereiche mit verbundenem t-Test konnte ein signifikanter Unterschied von zentral-tief zu peripher (p-Wert = 0,001), mit einem Mittelwert peripher > Mittelwert zental-tief, sowie von zentral-tief zu zentral-oberflächlich (p-Wert = 0,018), Mittelwert zentral-oberfächlich > Mittelwert zentral-tief, gezeigt werden.

Der paarweise Vergleich von zentral-oberflächlich und peripher (p-Wert = 0,688) konnte keinen signifikanten Unterschied zeigen. Da die Bereiche zentral-oberflächlich und peripher beide vornehmlich epidermale Teile der Tumore erfassen, ist dieses Ergebnis zu erwarten gewesen.

Geschichtet nach Dignität besteht weiterhin ein signifikanter Unterschied bezüglich aller Bereiche (peripher, zentral-tief, zentral-oberflächlich); ***p-Werte in Tabelle fett schwarz und kursiv***. Schichtet man nach Dignität, so lässt sich lediglich für Naevus Spitz und malignes Melanom ein signifikanter Unterschied für paarweisen Vergleich der Bereiche peripher und zentral-tief aufrechterhalten (p-Werte in Tabelle rot unterlegt).
Beim „spitzoiden“ malignen Melanom lässt sich beim paarweisen Vergleich der drei Bereiche kein signifikanter Unterschied zeigen (siehe Tabelle 3.4 auf Seite 59).

ztief-zoberfl	ztief-peripher	zoberfl-peripher	Dignität	p-Wert
0,235	**0,009**	0,082	Naevus Spitz	***<0,001***
0,283	0,737	0,115	„Spitzoides“ Melanom	***0,011***
0,094	**0,028**	0,957	Melanom	***0,002***

Tabelle 3.4:
Paarweiser Vergleich (verbundener T-Test) der Bereiche

3.5 Korrelationsanalysen

Es wurde untersucht, ob eine Korrelation zwischen durchschnittlicher quantitativer Proliferation und Breslow-Index (mm) für Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom besteht.

Desweiteren wurde eine Korrelationsanalyse, geschichtet nach den drei Bereichen, durchgeführt.

3.5.1 Korrelation durchschnittlicher Proliferationsraten mit der Tumordicke nach Breslow (mm)

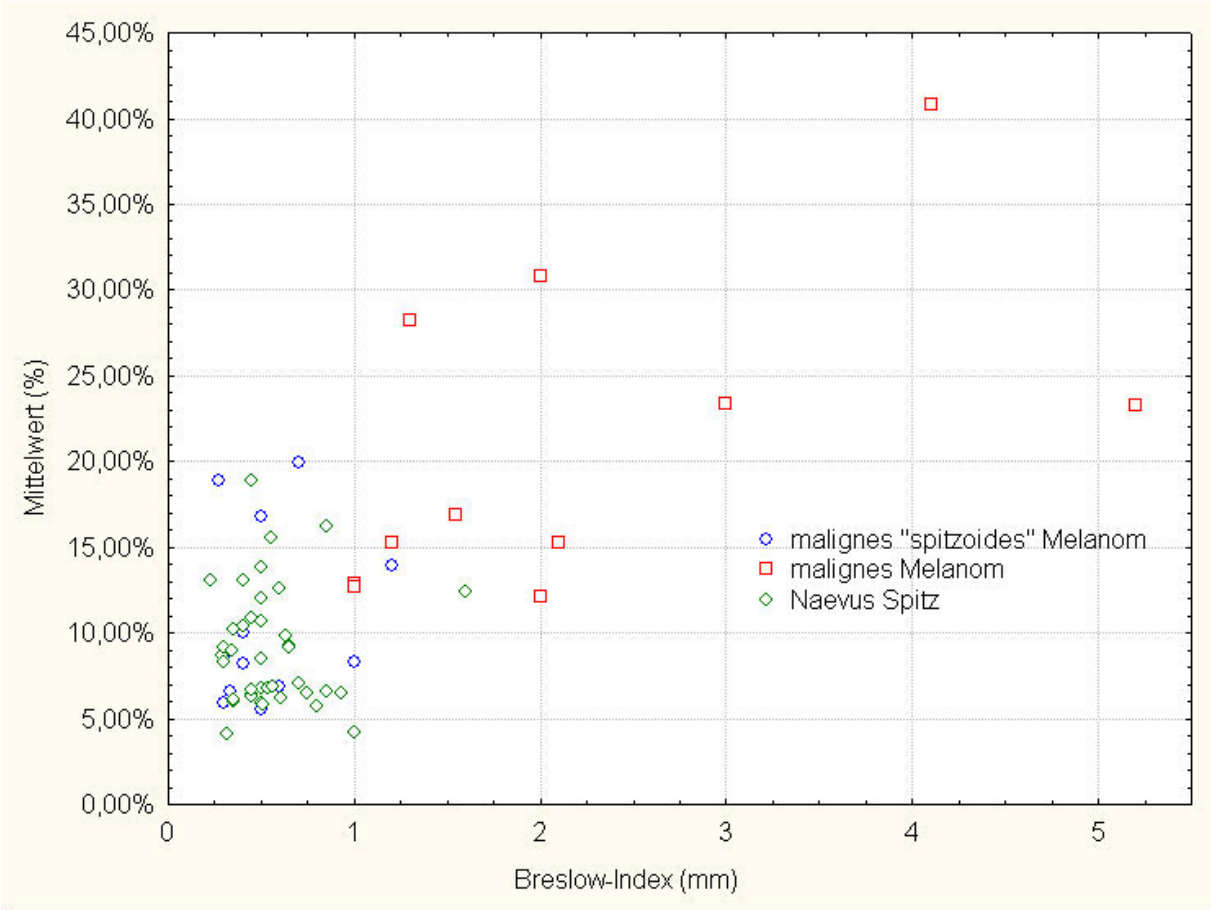


Abbildung 9:
Scatterplot der Naevi Spitz, „spitzoiden“ malignen Melanome und malignen Melanome zur Korrelation von Tumordicke und durchschnittlicher Proliferationsrate.
Anhand der nicht linearen Verteilung der Proliferationsraten im Scatterplot sowohl von Naevi Spitz, „spitzoider“ maligner Melanome und maligner Melanome zeigt sich, dass für alle drei Tumore keine Korrelation der durschnitllichen Proliferationsrate (%) mit der Tumordicke (mm) besteht.

3.5.1.1 Naevus Spitz

Der ermittelte Pearson Korrelationskoeffizient ist r = 0,0029.
Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) konnte nicht verworfen werden, da p = 0,986.
Somit besteht kein linearer Zusammenhang zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate und der Tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten Naevi Spitz (siehe Abbildung 9 auf Seite 60).

3.5.1.2 „Spitzoides“ malignes Melanom

Der ermittelte Pearson Korrelationskoeffizient ist r = 0,1795.
Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) konnte nicht verworfen werden, da p = 0,5767.
Somit besteht keine Korrelation zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate und der tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten „spitzoiden“ malignen Melanome (siehe Abbildung 9 auf Seite 60).

3.5.1.3 Malignes Melanom

Der ermittelte Pearson Korrelationskoeffizient ist r = 0,5465.
Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) konnte nicht verworfen werden, da p = 0,0819.
Somit besteht kein Korrelation zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate und der Tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten malignen Melanome (siehe Abbildung 9 auf Seite 60)

3.5.2 Korrelation durchschnittlicher Proliferationsraten, geschichtet nach den Bereichen zentral-oberflächlich, zentral-tief, peripher mit der Tumordicke nach Breslow (mm)

3.5.2.1 Naevus Spitz:

Pearson Korrelationskoeffizient (r) geschichtet nach den drei Bereichen:

peripher:	r = 0,32	p-Wert =0,985
zentral-oberflächlich:	r = 0,2236	p-Wert =0,190
zentral-tief:	r = 0,4930	p-Wert =0,493

Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) wird in allen Fällen nicht verworfen, da alle p-Werte < 0,05 sind.

Es besteht somit keine Korrelation zwischen den durchschnittlichen Proliferationsraten der einzelnen Bereiche und der Tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten Naevi Spitz.

3.5.2.2 „Spitzoides“ malignes Melanom

Pearson Korrelationskoeffizient (r) geschichtet nach den drei Bereichen:

peripher:	r = 0,3305	p-Wert =0,385
zentral-oberflächlich:	r = 0,3335	p-Wert =0,380
zentral-tief:	r = 0,2113	p-Wert =0,585

Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) wird in allen Fällen nicht verworfen, da alle p-Werte < 0,05 sind.

Es besteht somit keine Korrelation zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate der einzelnen Bereiche und der Tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten „spitzoiden“ malignen Melanome.

3.5.2.3 Malignes Melanom

Pearson Korrelationskoeffizient (r) geschichtet nach den drei Bereichen:

Peripher:	r = 0,6789	p-Wert=0,031
zentral-oberflächlich:	r = 0,5432	p-Wert=0,105
zentral-tief:	r = 0,4668	p-Wert=0,174

Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) wird für die Bereiche zentral-oberflächlich und zentral-tief nicht verworfen, da beide p-Werte < 0,05 sind.

Es besteht somit in diesen Bereichen keine Korrelation zwischen durchschnittlichen Proliferationsraten und der Tumordicke nach Breslow (mm) für die untersuchten malignen Melanome.

Der Test auf die Hypothese r = 0 (kein linearer Zusammenhang) wird für den Bereich peripher verworfen, da p = 0,031.

Hier besteht somit auf einem Niveau von 5% eine Korrelation zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate und Tumordicke nach Breslow (mm).

3.6 Altersabhängigkeit

Für jeden Tumor in dieser Untersuchung wurde auch das Alter des Patienten aufgenommen, um die Verteilung der Tumore in Altersschichten zu erfassen

3.6.1 Altersverteilung der untersuchten Tumoren für ihre entsprechende Entität

3.6.1.1 Naevus Spitz

Das Durchschnittsalter der Patienten mit einem exzidierten Naevus Spitz liegt in dieser Untersuchung bei 23,46 Lebensjahren mit einer Standardabweichung von s = 10,236. Die Patienten sind zwischen 3 und 54 Jahre alt. Der Interquantilabstand befindet sich in einem Bereich von ca. 18 bis 30 Jahren, während der Median bei ca. 23 Jahren liegt (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.1.2 „Spitzoides“ malignes Melanom

Das Durchschnittsalter der Patienten mit einem exzidierten „spitzoiden“ malignen Melanom liegt bei dieser Untersuchung bei 36,417 Lebensjahren mit einer Standardabweichung von s = 15,803. Die Patienten sind zwischen 21 und 71 Jahre alt. Der Interquantilabstand befindet sich in einem Bereich von ca. 25 bis 43 Jahren, während der Median bei ca. 32 Jahren liegt (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.1.3 Malignes Melanom

Das Durchschnittsalter der Patienten mit einem exzidierten malignen Melanom liegt bei dieser Untersuchung bei 69,636 Lebensjahren mit einer Standardabweichung von s = 16,114. Die Patienten sind zwischen 37 und 88 Jahre alt. Der Interquantilabstand befindet sich in einem Bereich von 54 bis 79 Jahren, während der Median bei ca. 75 Jahren liegt (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.2 Vergleich der Altersverteilung der untersuchten Tumore

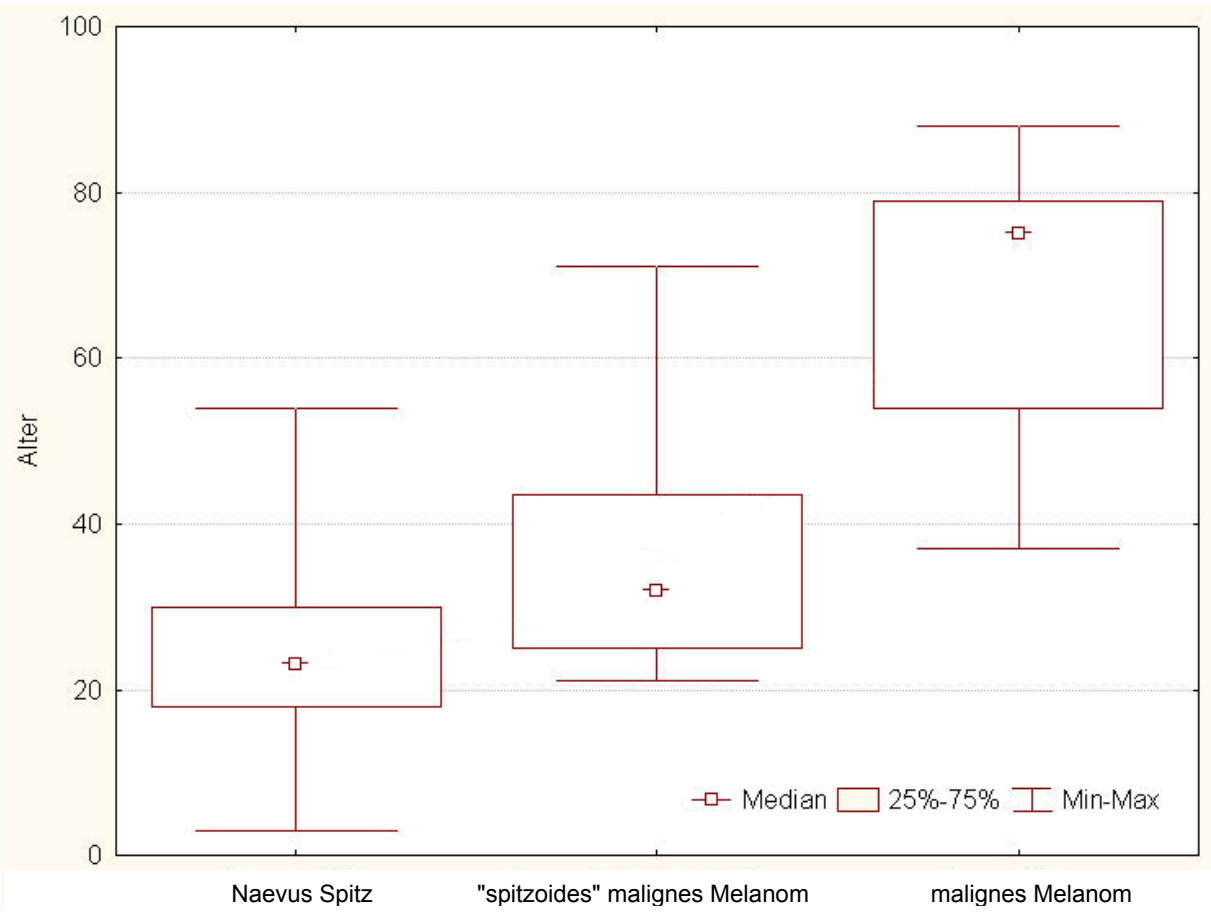


Abbildung 10:
Box-Plots zur Altersverteilung der Patienten mit Naevi Spitz, „spitzoiden“ malignen Melanomen und malignen Melanomen
Das Alter der Patienten mit Naevi Spitz, „spitzoiden“ malignen Melanomen und malignen Melanomen wurde in Box-Plots aufgetragen. Hierbei zeigt sich, dass Patienten mit malignen Melanomen ein höheres Alter aufweisen als Patienten mit Naevi Spitz und „spitzoiden“ malignen Melanomen.

Vergleicht man die Altersverteilung der drei Tumortypen Naevus Spitz, „spitzoides“ malignes Melanom und malignes Melanom in Abbildung 10 miteinander so zeigt sich ein genereller Anstieg des Lebensalters vom Naevus Spitz über „spitzoides“ malignes Melanom zum malignen Melanom. Dies spiegelt sich in Minimum und Maximum, Interquantilabstand und auch im Median wieder (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.2.1 Vergleich von Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom

Der Minimal- und Maximalwert für das Alter der Patienten unterscheiden sich in dieser Untersuchung deutlich voneinander. Der jüngste Patient mit einem Naevus Spitz ist 3 Jahre alt, während der jüngste Patient mit einem diagnostizierten „spitzoidem“ malignen Melanom 21 Jahre ist.

Ähnlich verhält es sich mit dem jeweils ältesten Patienten in den beiden Tumorgruppen. Der älteste Patient mit einem Naevus Spitz ist in dieser Untersuchung 54 Jahre alt, während der älteste Patient mit diagnostiziertem „spitzoidem“ malignen Melanom 71 Jahre alt ist. Obwohl bezüglich des Medians zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignem Melanom ca. 10 Jahre Unterschied bestehen, gibt es eine Überschneidung der Interquantilabstände in einem Bereich von 25-30 Jahren. Insgesamt gibt es Überschneidungen im Altersbereich von ca. 21 bis 53 Jahren. Das Patientenalter kann somit, insbesondere im Bereich der Überschneidung der Interquantilabstände, keine zusätzliche Hilfe bei der Dignitätsbestimmung dieser Tumore sein (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.2.2 Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom

Der Minimal- und Maximalwert für das Alter der Patienten unterscheiden sich in dieser Untersuchung deutlich voneinander. Der jüngste Patient mit einem Naevus Spitz ist 3 Jahre alt, während der jüngste Patient mit einem diagnostizierten malignem Melanom 37 Jahre alt ist.

Ähnlich verhält es sich mit dem jeweils ältesten Patienten in den beiden Tumorgruppen. Der älteste Patient mit einem Naevus Spitz ist in dieser Untersuchung 54 Jahre alt, während der älteste Patient mit diagnostiziertem malignen Melanom 88 Jahre alt ist. Bezüglich des Medians bestehen zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom ca. 53 Jahre Unterschied. Es gibt keine Überschneidung der Interquantilabstände. In einem Altersbereich von 38 bis 53 Jahren gibt es Überschneidungen, wo sich sowohl Patienten mit Naevus Spitz als auch malignem Melanom finden. Das Patientenalter kann somit in diesem Überschneidungsbereich keine zusätzliche Hilfe bei der Dignitätsbestimmung dieser Tumore sein (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.2.3 Vergleich von „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom

Der Minimal- und Maximalwert für das Alter der Patienten unterscheiden sich in dieser Untersuchung ebenfalls voneinander. Der jüngste Patient mit einem „spitzoidem“ malignen Melanom ist 21 Jahre alt, während der jüngste Patient mit einem diagnostizierten malignem Melanom 37 Jahre ist.

Ähnlich verhält es sich mit dem jeweils ältesten Patienten in den beiden Tumorgruppen. Der älteste Patient mit einem „spitzoidem“ malignen Melanom ist in dieser Untersuchung 71 Jahre, während der älteste Patient mit diagnostiziertem malignem Melanom 88 Jahre alt ist. Bezüglich des Medians bestehen zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom und malignem Melanom ca. 43 Jahre Unterschied. Es gibt keine Überschneidung der Interquantilabstände. In einem Altersbereich von 38 bis 71 Jahren gibt es Überschneidungen, wo sich sowohl Patienten mit „spitzoidem“ malignen Melanom als auch malignem Melanom finden. Das Patientenalter kann somit in diesem Überschneidungsbereich keine zusätzliche Hilfe bei der Dignitätsbestimmung dieser Tumore sein (siehe Abbildung 10 auf Seite 65).

3.6.2.4 Zusammenfassung der Vergleiche

Generell zeigt sich, dass Patienten mit einem diagnostizierten benignen Naevus Spitz jünger sind als Patienten mit einem malignen Melanom. Dennoch bedeutet dies keine sichere Hilfe bei der Beurteilung der Dignität, da es auch relativ junge Patienten mit einem malignen Melanom und auch ältere Patienten mit einem Naevus Spitz gibt.

Im Vergleich zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem“ malignen Melanom kann das Alter keinesfalls als Hilfe zur Bestimmung der Dignität betrachtet werden, da es deutliche Überschneidungen, insbesondere der Interquantilabstände, gibt.

Hier kann vom Einbeziehen des Alters des Patienten in die Beurteilung der Dignität nur abgeraten werden.

3.6.3 Kovarianzanalyse (ANCOVA)

In dieser Kovarianzanalyse wurde der Einfluss der Entität auf die durchschnittliche Proliferationsrate unter Berücksichtigung des Alters untersucht.
Ein ermittelter p-Wert von 0,003 zeigt hierbei Signifikanz, daraus folgt ein Einfluss der Entität auf die Proliferation.
Daraus folgt, dass sich die durchschnittliche Proliferation unter Berücksichtigung des Alters zwischen „spitzoidem“ malignen Melanom, Naevus Spitz und malignem Melanom unterscheidet (auf einem Niveau von 5%).

Beim anschließenden paarweisen Vergleich wurden folgende p-Werte ermittelt:
Naevus Spitz und „spitzoides“ malignes Melanom: $p = 0,224$
Naevus Spitz und malignes Melanom: $p = 0,005$
Malignes Melanom und „spitzoides“ malignes Melanom: $p = 0,076$

Der Einfluss der Entität auf die durchschnittliche Proliferationsrate unter Berücksichtigung des Alters liegt vorrangig am Vergleich von Naevus Spitz und malignem Melanom ($p = 0,005$).
Daraus folgt, dass beim paarweisen Vergleich der drei Entitäten nur zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom eine Signifikanz vorhanden ist und somit die „Gesamtsignifikanz“ aus der ANCOVA im Wesentlichen auf diesen paarweisen Vergleich zurückzuführen ist.

4. Diskussion

Der Naevus Spitz stellt eine der schwierigsten histologischen Differenzialdiagnosen zum malignem Melanom dar.

Bis zum heutigen Tag gibt es keinen spezifischen Marker zur Differenzierung zwischen malignem Melanom und (benignem) Naevus Spitz oder anderen melanozytären Tumoren. Proliferation ist ein charakteristisches Merkmal benigner und maligner Tumoren. Prinzipiell weisen allerdings maligne Tumore einen höheren Grad an Proliferation auf, zudem scheint die Proliferationsrate mit dem Grad der Malignität zu korrelieren oder zumindest zusammenzuhängen, wie zum Beispiel beim Barrett Ösophagus [Haggitt RC, 1994].

Dies hat zu einer Reihe von Untersuchungen geführt, die sich mit dem prognostischen Potential und der diagnostischen Wertigkeit von Proliferationsmarkern beschäftigt haben [Niemann et al., 1993].

Es konnten Korrelationen zwischen dem Grad von proliferativer Aktivität mit dem Tumorstadium oder zum Beispiel der Überlebenszeit des Patienten in unterschiedlichsten malignen Tumoren gezeigt werden [Jochum et al., 1996; Wakimoto et al., 1996].

Speziell für das maligne Melanom ließ sich nachweisen, dass die MIB-I Expression mit histologischen Parametern wie Tumordicke nach Breslow und Clark Level korreliert [Henrique et al., 2000].

Der in dieser Arbeit verwendete Proliferationsmarker Ki-67, Klon MIB-I stellt einen der ältesten und bekanntesten Proliferationsmarker dar.

Der MIB-I Antikörper markiert das KI-67 Antigen in formalinfixiertem, paraffin-eingebettetem Gewebe und ermöglicht somit Studien an archivierten Materialien. Die Expression des Ki-67 Proteins ist streng assoziiert mit dem Zellzyklus. Das Ki-67 Protein ist während der gesamten aktiven Phase des Zellzyklus detektierbar und kann nicht in ruhenden Zellen nachgewiesen werden. Dies macht Ki-67, Klon MIB-I, zu einem exzellenten Marker für die Zellproliferation [Scholzen und Gerdes, 2000].

Die in dieser Untersuchung vorgenommene Auswertung der Einzelfärbung mit dem Antikörper Ki-67, Klon MIB-1, war aufgrund der anatomischen Nachbarschaft epidermaler Keratinozyten zu Melanozyten, sowie der bekannten hohen Proliferationsrate von Keratinozyten erwartungsgemäß mit Schwierigkeiten behaftet. Die Unterscheidung zwischen proliferierenden Keratinozyten und proliferierenden Melanozyten war in der Einzelfärbung mit Ki-67 nur anhand morphologischer Kriterien möglich (siehe Abbildung

5, Seite 36). Die Problematik, dass sowohl proliferierende Melanozyten als auch Keratinozyten, insbesondere in der dermoepidermalen Junktionszone, mit einer einfachen MIB-I Färbung in die Auswertung gelangen, hat auch schon Soyer beschrieben [Soyer, 1991]. Andere Autoren beschreiben die Auswertung ihrer immunhistochemischen Einzelfärbungen mit MIB-1 hingegen als unproblematisch und anhand morphologischer Kriterien für möglich [Sparrow et al., 1998].

Anfängliche Auswertungen der Ki-67 Einzelfärbung waren aufgrund der morphologischen Schwierigkeiten in der Differenzierung zwischen Melanozyten und Keratinozyten sehr zeitaufwändig und somit für einen möglichen späteren klinisch diagnostischen Einsatz unpraktikabel. Die MIB-1 Einzelfärbung erwies sich mit einer zu hohen Fehlerquote behaftet, so dass dieser Weg nicht weiter beschritten wurde.

Zur besseren Erfassung der Proliferationsraten von Zellen melanozytären Ursprungs wurde daher eine spezielle Doppelfärbung mit den Markern Anti-Human Ki-67 Antigen und Anti-Vimentin neu entwickelt und immunhistochemisch an den zur Verfügung stehenden Schnitten der Spitz Naevi, „spitzoiden“ malignen Melanome und malignen Melanome zur Anwendung und Auswertung gebracht (siehe Abbildungen 4, Seite 35 und histologische Bilder im Anhang).

Anti-Vimentin, Klon V9, ist ein Antikörper, der mit Vimentin, einem 57 kDa Intermediär-filamentprotein in Zellen mesenchymalen Ursprungs, reagiert. Er zeigt keine Reaktivität mit ähnlichen Interfilamentproteinen wie Desmin, Keratin oder Neurofilament [Azumi und Battifora, 1987].

Lymphozyten und Langerhanszellen zeigten Reaktivität mit Anti-Vimentin, Klon V9, wobei die Anzahl proliferierender Langerhanszellen statistisch keinen Einfluss auf die Auswertung hatte. Die Reaktivität der Lymphozyten stellte im dermalen Bereich nur geringe Differenzierungsschwierigkeiten zu Melanozyten dar.

Vimentin, Klon V9, als Marker für Zellen mesenchymalen Ursprungs, wurde hierbei somit zur Differenzierung zwischen Melanozyten und Keratinozyten herangezogen. Im Vergleich der Färbungen miteinander zeigen sich die Vorteile der neu entwickelten Doppelfärbung Ki-67/Vimentin für die Auswertung (siehe Abbildung im Anhang).

Frühere Arbeiten wiesen bereits auf den Wert von Vimentin in der Differenzierung zwischen epithelialen und nicht epithelialen Tumoren hin, insbesondere auf die Reaktivität von Melanomzellen [Azumi und Battifora, 1987].

Neben der neu entwickelten Doppelfärbung wurde in dieser Arbeit versucht, den Tumor flächendeckend bezüglich seiner Proliferationsraten zu erfassen. Die gewählten zehn

Gesichtsfelder für diese Auswertung sind, wie schon im Teil Material und Methoden erwähnt, systematisch über den Gesamttumor verteilt. Unterschieden wurde dabei in oberflächlich epidermale (zentral-oberflächlich und Peripherie), sowie tiefere dermale Bereiche, wobei die gezählte Zellzahl pro Gesichtsfeld unter einer 200-fachen Vergößerung bei ca. 600 Zellen lag.

Durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten wurden aus allen Gesichtsfeldern berechnet und anschließend für den gesamten Tumor gemittelt.

Bergman et al., die sich schon zuvor mit Proliferationsraten diesbezüglich beschäftigt haben, legten ihren Auswertung nur 4 Gesichtsfelder zugrunde, deren Auswahl subjektiv visuell nach vermeintlich höchsten Proliferationszentren ausgerichtet war [Bergman et al., 2001].

Andere Arbeitsgruppen führten eine randomisierte Auswahl der Gesichtsfelder durch und betrachteten lediglich 100 Zellen mit Bezug auf Proliferation [Kaleem et al., 2000].

Weitere Unterschiede gibt es in der Ermittlung der maximalen Proliferationsrate eines Tumors: Während in dieser Arbeit der Maximalwert aus zehn Gesichtsfeldern berechnet wurde, nehmen zum Beispiel Sparrow et al. das Gesichtsfeld mit der höchsten Proliferationsrate als repräsentativ und aussagekräftig für den Gesamttumor an [Sparrow et al.,1998].

Bei der Betrachtung der Messergebnisse für die einzelnen Tumoren zeigen sich erhebliche Schwankungen der Proliferationsraten pro gemessenem Gesichtsfeld.

Die Proliferation zeigt nach diesen Messergebnissen ein relativ inhomogenes Verteilungsmuster innerhalb der Tumoren.

Die biologische Aktivität scheint somit nicht auf einzelne Proliferationszentren innerhalb des Tumors konzentriert, sondern über den Gesamttumor sowohl in der Breite als auch in der Tiefe verteil zu sein, sodass sich die Ergebnisse von Bergman et al.[2001] bzw. Kaleem et al.[2000] in ihrer Wertigkeit relativieren.

Nach unseren Ergebnissen können diese Auswertungsmethoden keine repräsentative Proliferationsrate für den Gesamttumor geben, da sie nicht die biologische Aktivität, verteilt über den Gesamttumor, berücksichtigen, sondern fokale Proliferationen beschreiben.

Mit der Auswertung möglichst vieler über den Tumor verteilter Gesichtsfelder lässt sich somit am ehesten eine repräsentative Proliferationsrate für den Gesamttumor ermitteln.

Die hier eingeschlagene Auswertungsmethode wird im übrigen durch andere Arbeiten bekräftigt, die eine geringe Reproduzierbarkeit bei der Erfassung von Proliferationsraten

mit Ki-67 [Ostmeier und Suter, 1989] beschreiben und eine Auswertung von mindestens sechs Gesichtsfeldern in 400-facher Vergrößerung empfehlen, um Reproduzierbarkeit zu gewährleisten [Li et al., 2000].

Eine Erweiterung zu den bisherigen Untersuchungen zur Proliferation melanozytärer Zellen in der Differenzialdiagnose Naevus Spitz vs. malignes Melanom liegt in der gesonderten Erfassung sogenannter „spitzoider" maligner Melanome.
In der zugänglichen Literatur wurde bisher nur das Proliferationsverhalten von Naevus Spitz und malignem Melanom verglichen. Das eigentliche diagnostische Problem für den Histopathologen stellt aber gerade die Grauzone zwischen Naevus Spitz imitierenden Melanom und Melanom imitierenden Naevus Spitz dar.

In dieser Arbeit wurden „spitzoide" maligne Melanome, ausgewählt nach histopathologischen Kriterien (siehe Befundungsbogen im Anhang), und Naevi Spitz getrennt von anderen primär malignen Melanomen betrachtet, um die kritische Grauzone benigner und maligner Läsionen anhand morphologischer, immunhistochemischer Zusatzkriterien aufzuhellen und besser differenzieren zu können.
Wie auch in anderen Studien zuvor zeigt sich ein deutlicher Unterschied im Proliferationsverhalten zwischen Naevus Spitz und malignen Melanom [Bergmann et al., 2001; Rudolph et al., 1997; Li et al., 2000].
Es lässt sich mit den Box-Plots 1, 2 und 3 (Seiten 38-39) graphisch anschaulich zeigen, dass generell die Gruppe der malignen Melanome im Vergleich zur Gruppe der Naevi Spitz, aber auch der „spitzoiden" malignen Melanome höhere Proliferationsraten aufweist. Der t-Test unabhängiger Stichproben zeigte zudem einen signifikanten Unterschied zwischen Naevus Spitz und malignem Melanom.
Naevus Spitz und „spitzoides" malignes Melanom hingegen unterscheiden sich trotz unterschiedlicher Dignität kaum bezüglich quantitativer Proliferation. Ein t-Test unabhängiger Stichproben zeigte hierbei keinen signifikanten Unterschied zwischen Naevus Spitz und „spitzoidem" malignen Melanom.
Interessanterweise unterscheiden sich jedoch unsere ermittelten Proliferationsraten, insbesondere für Naevi Spitz, von ermittelten Proliferationsraten in anderen Arbeiten. Während wir bei Naevi Spitz vom junktionalen Typ für durchschnittliche Proliferationsraten einen Mittelwert von 11,21% sowie für Naevi Spitz vom Compound-Typ einen Mittelwert von 7,73% ermittelten, lagen entsprechende Werte in anderen

Arbeiten in einem Bereich um 5% [Bergmann et al., 2001; Sparrow et al., 1998; Kaleem et al. 2000; Kanter-Lewensohn et al, 1997; Rudolph et al., 1997].

Bezüglich der hier ermittelten Proliferationsraten maligner Melanome und entsprechender Proliferationsraten für maligne Melanome in anderen Arbeiten gibt es jedoch kaum Unterschiede.

Aufgrund ihrer Ergebnisse sehen Rudolph et al bei 5% durchschnittlicher quantitativer Proliferation einen Grenzwert, bei dessen Überschreitung ein Indikator für Malignität gegeben ist [Rudolph et al., 1997].

Die in dieser Arbeit ermittelten Proliferationsraten widersprechen den von Rudolph et al beschriebenen Grenzwert von 5% als Indikator für Malignität. Nach diesen Daten muß ein etwaiger Grenzwert höher als 5% gesetzt werden, wenn nicht sogar die Frage gestellt werden muß, ob es in der speziellen Differentialdiagnose melanozytärer Tumoren, insbesondere Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom, überhaupt einen Grenzwert für Proliferationsraten gibt, der als Indikator für Malignität gelten kann und darf.

Die Resultate dieser Arbeit zeigen, dass generell die Proliferationsraten von „spitzoiden“ malignen Melanomen eher den Proliferationsraten der Naevi Spitz als denen der anderen primär malignen Melanome entsprechen.

Bei der zonalen Betrachtung der Proliferationsraten wurde sich in dieser Arbeit, wie im Teil Material und Methoden erwähnt, auf die Einteilung in epidermal (zentral-oberflächlich und peripher) und dermal (zentral-tief) beschränkt.

Sowohl in der Gruppe der Naevi Spitz, der „spitzoiden“ malignen Melanome und auch der malignen Melanome ließ sich kein eindeutiges Proliferationszentrum zeigen.

Bisherige Untersuchungen zur zonalen Proliferationsverteilung zeigten für Naevi Spitz und auch andere melanozytäre Naevi höhere Proliferationsraten im epidermalen als dermalen Bereich [Bergman et al., 2001; Rudolph et al., 1997; Li et al., 2000].

Oben genannte Untersuchungen beschreiben für Naevi Spitz und andere melanozytäre Naevi ein typisches Verteilungsmuster von Proliferation über den Gesamttumor. In den Untersuchungen von Rudolph et al. nimmt bei 65% der untersuchten Naevi Spitz die Proliferationsrate von epidermal nach dermal graduell ab. Rudolph verwendete allerdings einen anderen Klon, Ki-S5, für seine Untersuchung.

Unsere Ergebnisse bestätigen diese Aussagen nur zum Teil. Durch den in dieser Arbeit durchgeführten paarweisen Vergleich der Bereiche beim Naevus Spitz mittels verbundenem t-Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied für seitliche epidermale (peripher) gegenüber dermalen (zentral-tief) Bereichen. Der paarweise Vergleich der

Bereiche zentral-oberflächlich (epidermal) und zentral-tief (dermal) konnte diesen zonalen Proliferationsunterschied jedoch nicht wiederspiegeln.
Li und Rudolph sehen in diesem zonalen Proliferationsverhalten der Naevi Spitz einen Wegweiser zur Dignitätsbestimmung: Niedrige Proliferationsrate plus entsprechendes zonales Proliferationsverhalten spricht nach diesen Autoren für einen benignen Prozeß und somit für einen Naevus Spitz. Das zonale Proliferationsverhalten der Naevi Spitz spiegelt das morphologische Korrelat der Maturation melanozytärer Zellen zur Tiefe hin wieder [Li et al., 2000; Rudolph et al., 1997].
Der auch in dieser Arbeit signifikante Unterschied zwischen peripher und zentral-tief könnte sicherlich gut mit dem für den Naevus Spitz charakteristischem morphologischen Kriterium der Maturation zur Tiefe zusammenhängen. Dennoch können wir aufgrund unserer Messergebnisse zur zonalen Proliferation bei Naevi Spitz, insbesondere im zentralen Bereich des Tumors, kein für den Tumor typisches zonales Proliferations-verhalten erkennen und somit auch kein diagnostisches Zusatzkriterium bestätigen.

Bei der zonalen Betrachtung der Proliferationraten des malignen Melanoms ließen sich anhand der Messergebnisse leicht höhere Proliferationsraten im epidermalen als im dermalen Bereich zeigen, wobei eine Abnahme zur Tiefe zu erkennen war. Dies entspricht den Ergebnissen von Li et al., die ebenfalls höhere Proliferationsraten für das maligne Melanom epidermal gegenüber dermal beschreiben [Li et al., 2000].
Rudolph et al. [1997] sehen hingegen bei malignen Melanomen, insbesondere vom Clark Level III und IV, die Mehrzahl der proliferierenden Melanozyten im Bereich der Dermis, konzentriert an der invasiven Grenze des Tumors.
Anhand des paarweisen Vergleichs der Bereiche für das maligne Melanom zeigt sich in dieser Arbeit nur für die Bereiche peripher und zentral-tief ein signifikanter Unterschied. Die Bereiche zentral-oberflächlich und zentral-tief zeigen hingegen keinen signifikanten Unterschied bezüglich durchschnittlicher Proliferationsraten. Insbesondere im zentralen Bereich des malignen Melanoms zeigen unsere Messergebnisse somit ein eher homogenes Proliferationsverhalten, mit leichter Abnahme der Proliferationsrate zur Tiefe hin, und können die Aussage von Rudolph et al. [1997] nicht bestätigen.
Li et al. sehen beim Vergleich der zonalen Proliferationsraten für Naevus Spitz und malignes Melanom eine deutlichere Abnahme der Proliferation des Naevus Spitz zur Tiefe als es beim malignen Melanom der Fall ist, welches wie oben bereits erwähnt das

morphologische Korrelat der Maturation für den Naevus Spitz wiederspiegelt [Li et al., 2000].

Das „spitzoide“ maligne Melanom zeigt nach unseren Messergebnissen für zonale Proliferationsraten kein Proliferationszentrum.
Beim paarweisen Vergleich der Bereiche mittels verbundenen t-Test zeigte sich für das „spitzoide“ maligne Melanom kein signifikanter Unterschied der Bereiche.
Aufgrund seiner Eingruppierung zu malignen Melanomen hätte nach Rudolph et al. das „spitzoide“ maligne Melanom dermal und im Bereich der Invasionszone die höchste Proliferationsrate aufweisen müssen. Nach unseren Messergebnissen befinden sich jedoch höhere Proliferationsraten epidermal als dermal. Dies entspricht unseren und den Ergebnissen von Li et al.[2000] sowie Bergman et al.[2001] für Naevi Spitz. Betrachtet man unsere zonalen Proliferationsraten so fällt auf, dass nach dermal (zentral-tief) die Proliferationsraten zumeist abnehmen. Nach Li et al. [2000] und Bergman et al.[2001] spricht eine signifikante Abnahme für einen Naevus Spitz, welche das Charakteristikum der Maturation wiederspiegelt. Geringe oder nicht signifikante Abnahme der Proliferationsraten zur Tiefe sprechen ihrer Ansicht eher für ein malignes Melanom.
Unsere eigenen Messergebnisse ließen den Zusammenhang zwischen der Abnahme von Proliferationsraten zur Tiefe und dem histologischen Charakteristikum der Maturation beim Naevus Spitz nur bedingt zu.
Es scheint, als ob das „spitzoide“ maligne Melanom, neben der Betrachtung durchschnittlicher, maximaler und minimaler Proliferationsraten auch in der Betrachtung zonaler Proliferationraten eher einem Naevus Spitz gleicht als einem malignen Melanom.
Nimmt man die Aussagen von Bergman et al. [2001] und Li et al. [2000], so bestätigen unsere nicht signifikanten Ergebnisse im verbunden T-Test für zonale Proliferation beim „spitzoidem“ malignem Melanom eher dem malignem Charakter dieser Tumorform.
Nach unseren Ergebnissen kann zonales Proliferationsverhalten dennoch nicht zur Unterscheidung eines Naevus Spitz von einem „spitzoidem“ malignen Melanom dienen. Vielmehr führt das Einbeziehen von zonalen Proliferationsverhalten in die Dignitätsbestimmung, vorgeschlagen von Rudolph et al. [1997], Li et al. [2000] oder auch Bergman et al. [2001], bei der Fragestellung Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom unseres Erachtens eher zu Fehldiagnosen.

In mehreren Untersuchungen wurden schon der Zusammenhang zwischen durchschnittlicher Proliferationsrate und der Tumordicke nach Breslow für das maligne Melanom diskutiert. Es wird eine Korrelation proliferativer Aktivität mit der Tumordicke nach Breslow und dem Clark-Level beim malignen Melanom [Moretti et al., 2001; Kaudewitz et al, 1989] beschrieben und eine prognostische Wertigkeit proliferativer Aktivität aufgrund positiver Korrelation zur Tumordicke und metastatischer Dissemination diskutiert [Sparrow et al., 1998; Boni et al., 1996; Ramsay et al., 1995; Henrique et al., 2000].

Sparrow et al. beschreiben nach ihren Untersuchungsergebnissen eine niedrige Ki-67 Proliferationsrate in benignen melanozytären Läsionen, ein progressives Ansteigen dieser Proliferationsrate bei primär malignen Melanomen mit Tumorinvasion und höchste Proliferationsraten bei metastatischen Melanomen [Sparrow et al., 1998]. Diese Ergebnisse und Aussagen bestätigen Resultate anderer Untersuchungsergebnisse mit Proliferations-markern [Kahn, 1993; Gelschleichter et al., 1995; Saenz-Santamaria et al., 1994].

Obwohl es unüblich ist, bei benignen melanozytären Tumoren die Tumordicke zu bestimmen, haben wir trotzdem die Tumordicke nach Breslow bei unseren Naevi Spitz bestimmt, um eine Korrelation zur Proliferationsrate erstellen zu können. Mit den von uns ermittelten Proliferationsraten konnte jedoch keine positive Korrelation zur Tumordicke nach Breslow sowohl für Naevi Spitz, „spitzoide“ maligne Melanome und maligne Melanome gezeigt werden (Abbildung 9: Scatterplot auf Seite 59). Dies kann jedoch an der geringen Anzahl untersuchter Tumoren liegen, insbesondere „spitzoider“ maligner Melanome und maligner Melanome. Auch der Versuch, die einzelnen Proliferationsraten der drei unterschiedliche Zonen (zentral-oberflächlich, zentral-tief und peripher) bei jeweils Naevi Spitz, „spitzoiden“ malignen Melanomen und malignen Melanomen mit der Tumordicke nach Breslow zu korrelieren, konnte bis auf den Bereich peripher des malignen Melanoms keine postive Korrelation zeigen. Trotz der geringen Anzahl betrachteter Tumoren sehen wir in der Proliferationsrate aufgrund negativer Korrelation zur Tumordicke, insbesondere für den Naevus Spitz und das „spitzoide“ maligne Melanom, keinen Prognosefaktor oder diagnostisches Zusatzkriterium.

Die in dieser Arbeit zusätzlich durchgeführten Analysen bezüglich des Alters der Patienten ergibt darüberhinaus keine neuen Erkenntnisse.

Es stellt sich weiterhin die Frage, wie ein benigner Naevus Spitz und ein „spitzoides“ malignes Melanom sicher voneinander unterschieden werden können. Betrachtet man die erhobenen Daten von Proliferationsraten dieser Arbeit, so findet sich ein „spitzoides“ malignes Melanom eher im Bereich der benignen Naevi Spitz als der malignen Melanome. Untersuchungen der letzten Jahre haben das maligne Potenzial „spitzoider“ maligner Melanome gezeigt [Strojan und Lamovec, 2000; Kogut et al., 2000; Mones und Ackerman, 2003]. Das maligne Potenzial „spitzoider“ maligner Melanome scheint sich jedoch von dem anderer maligner Melanome zu unterscheiden.

Berichte über „spitzoide“ maligne Melanome oder Melanome der Kindheit weisen immer wieder einen relativ langsam progredienten Verlauf nach: Erst nach einem längeren Zeitraum von bis zu mehreren Jahren kommt es zu einer Metastasierung in regionale Lymphknoten, zu disseminierter Streuung in innere Organe oder in wenigen Fällen auch zum Tod [Davis, 2000; Neville et al., 2000; Zuckerman et al., 2001].

Dieses Verhalten „spitzoider “maligner Melanome und die in dieser Arbeit ermittelten niedrigen Proliferationsraten sprechen unseres Erachtens dafür, dass es sich bei diesem Tumor um ein „niedrigmalignes“ Melanom handelt. Diese Hypothese wurde auch kürzlich von Cerroni geäußert, der wegen des vergleichsweise verzögerten Eintretens einer Metastasierung bei „spitzoiden“ malignen Melanomen einen potentiell niedrigmalignen Tumor annimmt [Cerroni, 12th Congress of EADV 2003, Barcelona, C3-10, persönliche Mitteilung; Cerroni, 2004].

Das Modell eines „niedrigmalignen“ „spitzoiden“ Melanoms könnte an andere Modelle von Neoplasien anknüpfen, so zum Beispiel am Mammakarzinom, Prostatakarzinom oder auch Ösophaguskarzinom.

Da es zurzeit keine Kriterien gibt, ein „spitzoides“ malignes (vielleicht auch niedrig-malignes) Melanom von einem Naevus Spitz zu differenzieren und auch unsere Daten mit annähernd gleichen Proliferationsraten beider Tumore keine Differenzierung zulassen, sollte über ein grundsätzliches Screening-Programm für Patienten mit Naevus Spitz nachgedacht werden. Voraussetzung wäre eine genaue Bestimmung der Proliferationsrate, zum Beispiel mit Hilfe der hier vorgestellten Doppelfärbung. Patienten mit einer sehr niedrigen Proliferationsrate bei histologisch diagnostiziertem Naevus Spitz sollten lediglich weitmaschige Kontrolluntersuchungen empfohlen werden. Patienten mit Naevi Spitz mit hoher Proliferationsrate sollten unseres Erachtens in ein deutlich engeres und umfangreichers Screeningprogramm aufgenommen werden, da hier ein höheres Potential

für eine Metastasierung zu bestehen scheint. Diese Screeningprogramme müssten, wegen des offenbar längeren Zeitintervalls der Metastasierung „spitzoider“ maligner Melanome, mehrere Jahre umfassen, dies umso mehr und engmaschiger, wenn aufgrund histologischer Kriterien ein „spitzoides“ malignes Melanom diagnostiziert wurde.

Nach unserer Auffassung ist das Potenzial immunhistochemischer Untersuchungen, insbesondere für Proliferationsverhalten, in der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom mit den derzeit verfügbaren Antikörpern praktisch erschöpft.

Neue Methoden, die einen Einblick in dass Genom der Zellen gewähren, bestimmen derzeitige Forschungsbestrebungen in dieser Differentialdiagnose und lieferten bereits vielversprechende Ergebnisse. Bastian et al. konnten eine chromosomale Aberration am kurzen Arm von Chromosom 11 für Naevi Spitz zeigen. Alle 132 untersuchten malignen Melanome wiesen diese chromosomale Abberation nicht auf [Bastian et al., 2003]. Jüngste Ergebnisse von Palmedo et al. konnten eine fehlende Punktmutationen T1796A im *BRAF*-Gen bei Naevi Spitz nachweisen, die bei den untersuchten malignen Melanomen vorhanden war. „Spitzoide” maligne Melanome wiesen hingegen nur in Einzelfällen diese Mutation im *BRAF* Gen auf [Palmedo et al., 2004].

5. Zusammenfassung:

In dieser Arbeit wurde die Wertigkeit von Proliferationsraten in der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom untersucht. Hierfür wurde eine spezielle Doppelfärbung mit den immunhistochemischen Markern Anti-Vimentin und Ki-67 entwickelt. Durch diese neue Doppelfärbung war eine bessere Differenzierung zwischen proliferierenden Keratinozyten und proliferierenden Melanozyten möglich und somit eine genauere Erfassung von Proliferationsraten gegeben.

Die Ergebnisse zeigen, dass es bei der Betrachtung der Proliferationsraten nur geringfügige Unterschiede zwischen Naevi Spitz und „spitzoiden“ malignen Melanomen, sowohl für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten als auch für die einzelnen Bereiche innerhalb der Tumoren, gibt.

Das maligne Melanom hingegen unterscheidet sich deutlich in seinen Proliferationsraten, sowohl für durchschnittliche, maximale und minimale Proliferationsraten als auch für die einzelnen Bereiche innerhalb der Tumoren, von Naevi Spitz und „spitzoiden“ malignen Melanomen.

Nach unseren Ergebnissen kann die Proliferationsrate in der Differentialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom keinen eindeutigen Hinweis auf die Dignität des Tumors geben. Allerdings können unsere Untersuchungen die kürzlich geäußerte Hypothese stützen, dass es sich beim „spitzoidem“ malignen Melanom um ein „niedrigmalignes Melanom“ handelt. Auch stellt sich nach den Ergebnissen dieser Arbeit die Frage, ob die Proliferationsrate überhaupt als Kriterium bei der schwierigen histopathologischen Differenzialdiagnose Naevus Spitz vs. „spitzoides“ malignes Melanom mit einbezogen werden sollte, da aufgrund der hier ermittleten Proliferationsraten keine Differenzierung dieser beiden Tumoren möglich war.

Proliferationsraten und Tumordicke der Tumoren korrelierten in dieser Untersuchung nicht miteinander und die Erfassung des Alters der Patienten brachte keine neuen Erkenntnisse.

6. Literaturverzeichnis:

Allen A. A reorientation of the histogenesis and clinical significance of cutaneous nevi and melanomas. Cancer 2: 28-56 (1949)

Allen AC, Spitz S. Malignant Melanoma: a clinicopathological analysis of the criteria for diagnosis and prognosis. Cancer 6: 1-45 (1953)

Ackerman AB, Cerroni L, Kerl H. Benign Simulators of Melanoma, In: Pitfalls in histopathologic diagnosis of malignant melanoma. 1.Auflage, Seite 182, Lea&Febiger, Philadelphia-Baltimore-Hong Kong-London-Munich-Sidney-Tokyo, 1994

Ackerman AB. Discordance among expert pathologists in diagnosis of melanocytic neoplasms. Human Pathol 27: 1115-1116 (1996)

Argenziano G, Scalvenzi M, Staibano S, Brunetti B, Piccolo D, Delfino M, De Rosa G, Soyer HP. Dermatoscopic pitfalls in differentiating pigmented Spitz naevi from cutaneous melanomas. Br J Dermatol 141: 788-793 (1999)

Azumi N, Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin- and alcohol-fixed tumors. Am J Clin Pathol 88: 286-96 (1987)

Bastian BC, Olshen AB, LeBoit PE, Pinkel D. Classifying melanocytic tumors based on DNA copy number changes. Am J Pathol 163 (5): 1765-70 (2003)

Bergman R, Malkin L, Sabo E, Kerner H. MIB-1 monoclonal antibody to determine proliferative activity of Ki-67 antigen as an adjunct to the histopathologic differential diagnosis of Spitz nevi. J Am Acad Dermatol 44: 500-4 (2001)

Boni R, Doguoglu A, Burg G, Muller B, Dummer R. MIB-1 immunoreactivity correlates with metastatic dissemination in primary thick cutaneous melanoma. J Am Acad Dermatol 35: 416-418 (1996)

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

Breslow A. Tumor thickness, level of invasion and node dissection in stage I melanoma. Ann Surg 182: 572-575 (1975)

Busam KJ, Barnhill RL. Spitz nevi and related lesions. In: Pathology of Melanocytic Nevi and Malignant Melanoma. 1. Auflage 1995: 97-130, Butterworth-Heinemann, Newton, Massachusetts

Christensen WN, Friedman KJ, Woodruff JD, Hood AF. Histologic characteristics of vulvar nevocellular nevi. J Cutan Pathol 14: 87-91 (1987)

Clark WH, From L, Bernadino EA. The histogenesis in behaviour of primary human malignant melanomas of the skin. Cancer Res 29: 707-26 (1969)

Colombari R, Bonetti F, Zamboni G, Scarpa A, Marino F, Tomezzoli A, Capelli P, Minestrina F, Chiosi M, Fiori-Donati L. Distribution of melanoma specific antibody (HMB-45) in benign and malignant melanocytic lesions. Virchows Archiv [A] 413: 17-24 (1988)

Darier J, Civatte J. Naevus ou naevo-carcinome chez un nourrisson. Bull Soc Fr Derm Syph 21: 61-3 (1910)

Davis C. Late recurrence in paediatric melanoma. N Z Med J 113: 407 (2000).

Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. Br J Dermatol 146 Suppl 61: 1-6 (2002)

Farmer ER, Gonin R, Hanna MP. Discordance in the histopathologic diagnosis of melanoma and melanocytic nevi between expert pathologists. Human Pathol 27: 528-531 (1996)

Gelschleichter L, Gown AM, Zarbo RJ. p53 and mdm-2 Expression in malignant melanoma: an immunocytochemical study of expression of p53, mdm-2, and markers of cell proliferation in primary versus metastatic tumors. Mod Pathol 8: 530-535 (1995)

Goldman L, Richfield DF. Effect of corticotropin and cortisone on development and progress of pigmented nevi. JAMA 147: 941-943 (1951)

Gonzàles-Càmpora R, Galer-Davidson H, Vàsquez-Ramìres, Dìaz-Cano S. Blue nevus: classical types and new related entities. Pathol Res Pract 190: 627-635 (1994).

Gown AM, Vogel AM, Gough DH et F, McNutt MA. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumours distinguish subpopulations of melanocytes. Am J Pathol 123: 195-203 (1986)

Haggitt RC. Barrett`s esophagus, dysplasia, and adenocarcinoma. Human Pathol 25: 982-993 (1994)

Helwig E. Seminar on skin neoplasms and dermatoses: twentieth seminar of the American Society of Clinical Pathologist. Washington (DC): American Society of Clinical Pathologists; p. 63-67 (1954)

Henrique R, Azevedo R, Bento MJ, Domingues JC, Silva C, Jerònimo C. Prognostic value of Ki-67 expression in localized cutaneous malignant melanoma. J Am Acad Dermatol 43(6): 991-1000 (2000)

Jochum W, Schröder S, al-Taha R, August C, Gross AJ, Berger J, Padberg BC. Prognostic significance of nuclear DANN content and proliferative activity in renal cell carcinomas: a clinicopathologic study of 58 patients using mitotic count, MIB-I staining, and DANN cytophotometry. Cancer 77: 514-21 (1996)

Kaddu S, Wolf IH, Soyer HP, Kerl H. Reticulated black solar lentigo (reticulated melanotic macule) is not a solar lentigo. Dermatopathol Pract Concept 1: 225-228 (1995)
Kahn HJ, Baumal R, Marks A. The value of immunohistochemical studies using antibody to S-100 protein in dermatopathology, Int J Dermatol 23: 38-44 (1984)

Kahn HJ. MIB-1 proliferative activity in primary and metastatic melanomas. Br J Dermatol 129(suppl 42): 18. Abstract (1993)

Kaleem Z, Lind AC, Humphrey PA, Sueper RH, Swanson PE, Ritter JH, Wick MR. Concurrent Ki-67 and p53 immunolabeling in cutaneous melanocytic neoplasms: an adjunct for recognition of the vertical growth phase in malignant melanomas? Mod Pathol 13: 217-222 (2000)

Kamino H, Misheloff E, Flotte TJ, Greco MA, Ackerman AB. Eosinophilic globules in Spitz`s nevi: New findings and a diagnostic sign. Am J Dermatopathol 4: 319-324 (1979)

Kanter-Lewensohn L, Hedblad MA, Wejde J, Larsson O.. Immunohistochemical markers for distinguishing Spitz nevi from malignant melanomas. Mod Pathol 10: 917-20 (1997)

Kaudewitz P, Braun-Falco O, Ernst M, Landthaler M, Stolz W, Gerdes J. Tumor cell growth fractions in human malignant melanomas and the correlation to histopathologic tumor grading. Am J Pathol 134: 1063-1068 (1989)

Kerl H, Trau H, Ackerman AB. Differentiation of melanocytic nevi from malignant melanomas in palms, soles, and nail beds solely by signs in the cornified layer of the epidermis. Am J Dermatopathol 6: 159-160 [Suppl] (1984)

Kerl H, Smolle H, Hoedl S, Soyer HP. Kongenitales Pseudomelanom. Z Hautkr 64: 564-568 (1989)

Kerl H, Soyer HP, Cerroni L, Wolf I. "Ancient" nevus: a benign simulator of melanoma. J Cutan Pathol 20: 550 (Abstract) (1993).

Kernen J, Ackerman L. Spindle cell nevi and epithelioid cell nevi (so-called juvenile melanomas in children and adults): a clinicopathological study of 27 cases. Cancer 13: 612-625 (1960)

Kölmel KF, Lippold A, Kulle B, Veltmaat S, Stoltenberg M, Seebacher C. Zur Sterblichkeit am kutanen invasiven malignen Melanom. Hautarzt 52: 211-218 (2001)

Kogut KA, Flemming M, Pappo AS, Schropp KP. Sentinel lymph node biopsy for melanoma in young children. J Pediatr Surg 35: 956 (2000)

Kopf AW, Kripke ML, Stern RS. Sun and malignant melanoma. J Am Acad Dermatol 11: 674-684 (1984).

Kornberg R, Ackerman AB. Pseudomelanoma. Arch Dermatol 111; 1588-1590 (1975)

Li LX, Crotty KA, McCarthy SW, Palmer AA, Kril JJ. A zonal comparison of MIB1-Ki67 immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions. Am J Dermatopathol 22: 489-495 (2000)

Lund HZ, Stobbe GD. The natural history of the pigmented naevus: factors of age and anatomic location. Am J Pathol 25: 1117-1145 (1949)

MacKie RM, Hole DJ, Evans A, Rankin R, Hunter JAA, Hutcheon A, Morris A. Incidence, mortality and survival in cutaneous malignant melanoma in Scotland 1979-1994. Melanoma Res 7(Suppl 1): Abstract 260 (1997).

MacKie RM. Epidermal Skin Tumors.
In: ROOK/WILKINSON/EBLING Textbook of Dermatology, 6. Auflage, Band 2: 1651-1693, Blackwell Science, Oxford, London, Edinburgh, Malden, Victoria, Paris, 1998.

MacKie RM. Melanocytic Nevi and Malignant Melanoma.
In: ROOK/WILKINSON/EBLING Textbook of Dermatology; 6. Auflage, Band 2: 1717-1752, Blackwell Science, Oxford, London, Edinburgh, Malden, Victoria, Paris, 1998.

Maize JC, Foster G. Age-related changes in melanocytic naevi. Clin Exp Dermatol 4: 49-58 (1979)

McGovern VJ, Caldwell RA, Duncan CA, Finlay-Jones LR, Hardy EG, Hicks JD. Moles and malignant melanoma: terminology and classification. Med J Aust 1: 123-125 (1967)

McWhorter H, Woolner L. Pigmented nevi, juvenile melanomas, and malignant melanomas in children. Cancer 7: 564-585 (1954)

Mones JM, Ackerman AB. Melanomas in Prepubescent Children. Review Comprehensively, Critique Historically, Criteria Diagnostically, and Course Biologically. Am J Dermatopathol 25(3): 223-238 (2003)

Neville HL, Andrassy RJ, Lally KP, Copron C, Ross M. Lymphatic mapping with sentinel node biopsy in pediatric patients. J Pediatr Surg 35: 961-964 (2000)

Nicholls EM. Development and elimination of pigmented moles, and the anatomical distribution of primary malignant melanoma. Cancer 32: 191-195 (1973)

Niemann TH, Argenyi ZB. Immunohistochemical study of Spitz nevi and malignant melanoma with use of antibody to proliferating cell nuclear antigen. Am J Dermatopathol 5: 441-445 (1993)

Ostmeier H, Fuchs B, Mawick R, Lippold A, Krieg V, Suter L. Prognostic immunohistochemical markers of primary human melanomas. Br J Dermatol 145: 203-209 (2001)

Pack G, Anglem T. Tumors of the soft somatic tissue in infancy and childhood. J Pediatr 15: 372-400 (1939)

Palmedo G, Hantschke M, Rütten A, Mentzel T, Hügel H, Flaig MJ, Yazdi AS, Sander CA, Kutzner H. The T1796A mutation of the BRAF gene is absent in Spitz nevi. J Cutan Pathol 31: 266-270 (2004)

Panagio-Perreira C, Maize JC, Ackerman AB. Nevus of large spindle and/or epithelioid cells (Spitz`s nevus). Arch Dermatol 114: 1811-1823 (1978)

Paredes B, HardmeierT. Spitz nevus and Reed nevus: simulating melanoma in adults. Pathologe 19(6): 403-411 (1998)

Pizzichetta MA, Argenziano G, Grandi G, De Giacomi C, Trevisan G, Soyer HP. Morphologic changes of a pigmented Spitz nevus assesed by dermoscopy. J Am Acad Dermatol 47: 137-139 (2002)

Ramsay JA, From L, Iscoe NA, Kahn HJ. MIB-1 proliferative activity is a significant prognostic factor in primary thick cutaneous merlanomas. J Invest Dermatol 105: 22-26 (1995)

Reed RJ, Ichinose H, Clark WH, Jr. Common and uncommon melanocytic nevi and borderline melanomas. Semin Oncol 2: 119-147 (1975)

Rigel DS Malignant melanoma : perspectives on incidence and its effects on awareness, diagnosis, and treatment. CA Cancer J Clin 46: 195-198 (1996)

Rudolph P, Schubert C, Schubert B, Parwaresch R.. Proliferation marker Ki-S5 as a diagnostic tool in melanocytic lesions. J Am Acad Dermatol 37: 169-178 (1997)

Ruiter DJ, Bröcker EB. Immunhistology of melanoma. In: Lejeune FJ, Chaudhuri PK, Das Gupta TK. Malignant melanoma. Medical and surgical management: 135-147, McGraw-Hill, New York-St.Louis-San Francisco, 1994.

Saenz-Santamaria MC, Reed JA, McNutt NS, Shea SR. Immunohistochemical expression of bcl-2 in melanomas and intradermal nevi. J Cutan Pathol 21: 393-397 (1994)

Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol 182: 311-322 (2000)

Seab JA, Graham Jh, Helwig EB. Deep penetrating nevus. Am J Surg Pathol 13: 39-44 (1989)

Shelly WB. Photographic evidence of the spontaneous involution and disappearance of pigmented nevi. Arch Dermatol 81: 208-209 (1960)

Soyer HP. KI 67 Immunostaining in melanocytic skin tumors. Correlation with histologic parameters. J Cutan Pathol 18: 264-272 (1991)

Sparrow LE, English DR, Taran JM, Heenan PJ. Prognostic significans of MIB-1 proliferative activity in thin melanomas and immunohistochemical analysis of MIB-1 proliferative activity in melanocytic tumors. Am J Dermpathol 20: 12-16 (1998)

Spitz S. Melanomas in childhood. Am J Pathol 24: 591-609 (1948)

Strojan P, Lamovec J. Prepubertal malignant melanoma: report of three cases. Pediatr Hematol Oncol 17: 163-169 (2000)
Tronnier M, Wolff HH. UV-irradiated melanocytic nevi simulating melanoma in situ. Am J Dermatopathol 17: 1-6 (1995)

Tronnier M. Nävi. In : Braun-Falco/Plewig/Wolff: Dermatologie und Venerologie. 4. Auflage, 1252-1276, Springer Verlag, 1996

Tronnier M, Garbe C, Bröcker EB, Stadler R, Steinkraus V, Soyer HP, Wolff HH. Standards der histopathologischen Diagnose maligner Melanome. Hautarzt 48: 720-729 (1997)

Wakimoto H, Aoyagi M, Nakayama T, Nagashima G, Yamamaoto S, Tamaki M, Hirakawa K.. Prognostic significance of Ki-67 labeling indices obtained using MIB-I monoclonal antibody in patients with supratentorial satrocytomas. Cancer 77: 373-380 (1996)

Zuckerman R, Maier JP, Guincy WB Jr., Huntman WT, Mooney EK. Pediatric melanoma: Confirming the diagnosis with sentinel node biopsy. Ann Plast Surg 46: 394-399 (2001)

7. Anhang

7.1 Histologischer Begutachtungsbogen

Histologischer Befund: _____

Präparate Nr.: _____

Symmetrie ☐	Asymmetrie ☐	nicht beurteilbar ☐
Begrenzung scharf ☐	Begrenzung unscharf ☐	unklar ☐
Maturation vorhanden ☐	Maturation fehlend ☐	
Epiderm.Hyperplasie vorhanden ☐	Epiderm.Hyperplasie fehlend ☐	
Hypergranulose vorhanden ☐	Hypergranulose fehlend ☐	
kompakte Hyper-keratose vorhanden ☐	Hyperkeratose fehlend ☐	
Nester vorhanden ☐	Nester fehlend ☐	
Keine Einzelzellen suprabasal ☐	Wenig Einzelzellen suprabasal ☐	Viele Einzelzellen suprabasal ☐
Keine Einzelzellen junktional ☐	Wenig Einzelzellen junktional ☐	Viele Einzelzellen junktional ☐
Spaltbildung um Nester vorhanden ☐	Spaltbildung um Nester fehlend ☐	
viele Spindelzellen ☐	vereinzelt Spindelz. ☐	Keine Spindelzellen ☐
viele epitheloide Zellen ☐	vereinzelt ☐	keine epith.Zellen ☐

viele Riesenzellen ☐ vereinzelt ☐ keine Riesenzellen ☐

keine stark atyp. Zellen ☐ vereinzelt ☐ viele atyp. Zellen ☐

viele Kamino Bodies ☐ vereinzelt ☐ keine Kamino Bodies ☐

keine Mitosen ☐ vereinzelt ☐ viele Mitosen ☐

Dermis:

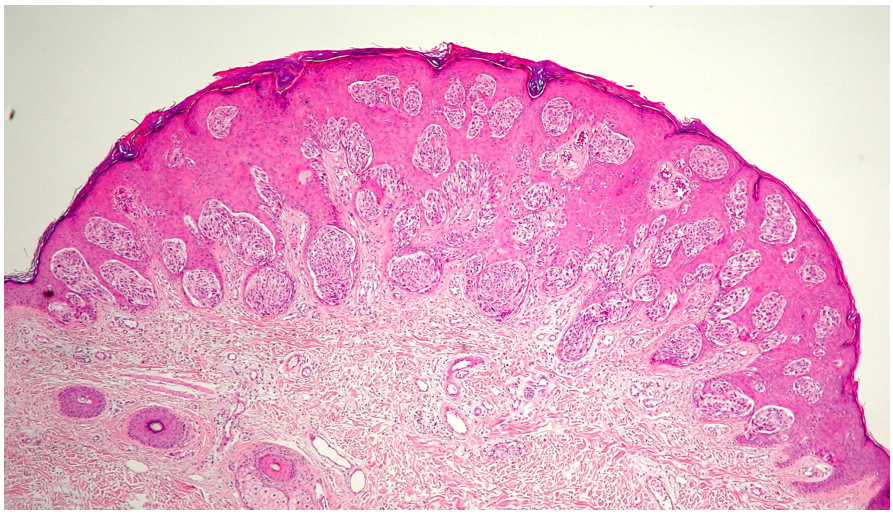
Viele Nester ☐ vereinzelt Nester ☐ keine Nester ☐

keine Einzelzellen ☐ vereinzelt ☐ viele Einzelzellen ☐

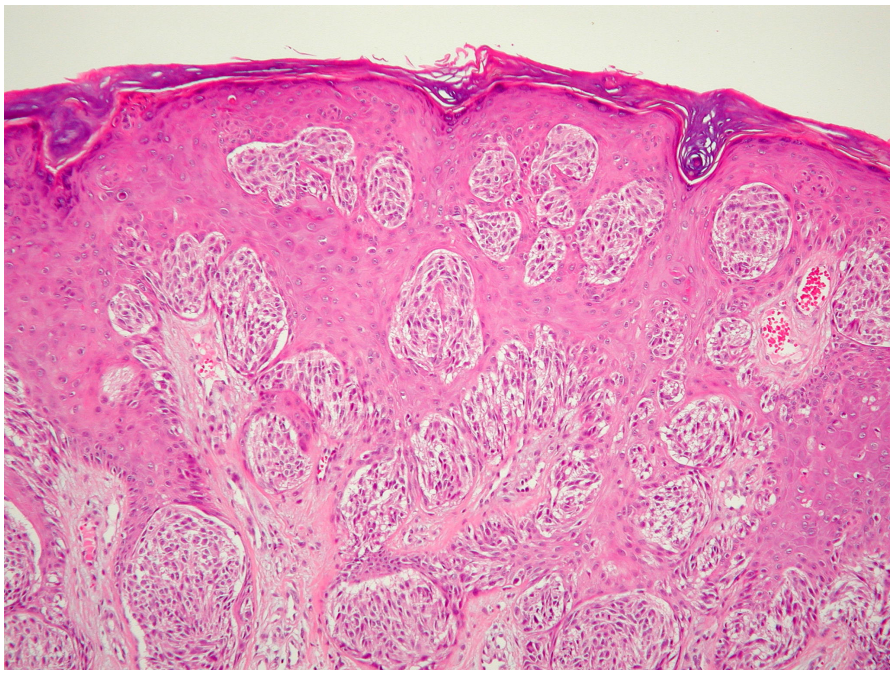
„Sheet"-artiges Wachstum nicht vorhanden ☐ „Sheet"-artiges Wachstum vorhanden ☐

Entzündung fleckförmig ☐ Entzündung keine ☐ Entzündung bandartig ☐

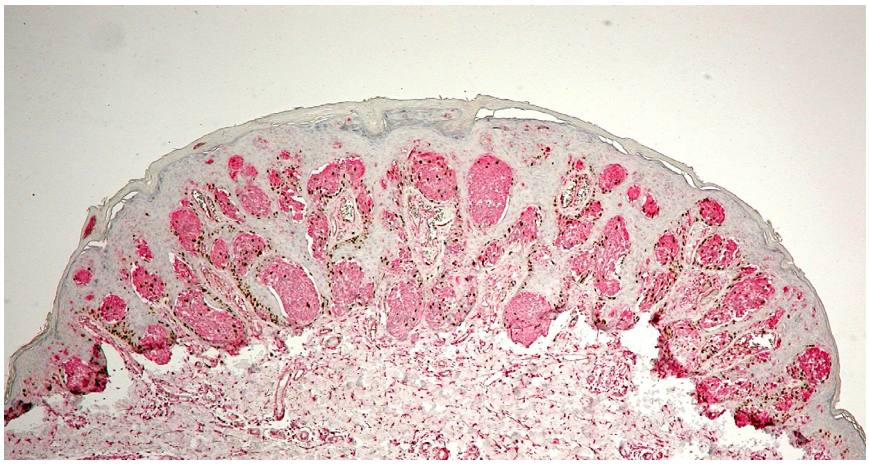
7.2 Histologische Bilder: HE und Doppelfärbung MIB-I/Vimentin



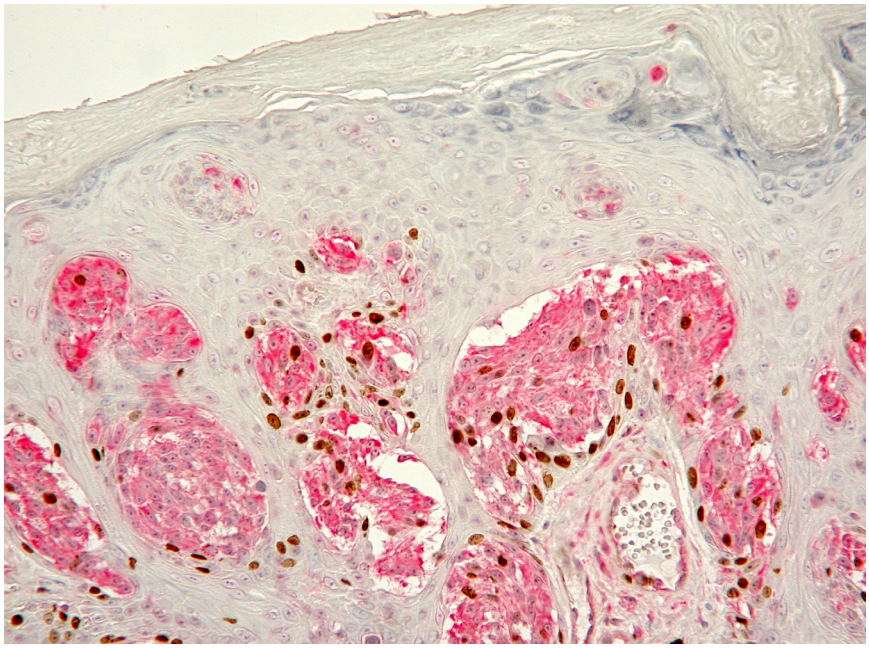
Naevus Spitz vom junktionalen Typ (7433/99):
Domförmig, symmetrisch aufgebauter und zu beiden Seiten scharf begrenzter Tumor mit epidermaler Hyperplasie, Hypergranulose. Nävoide Zellelemente ausschließlich junktional. (HE x20)



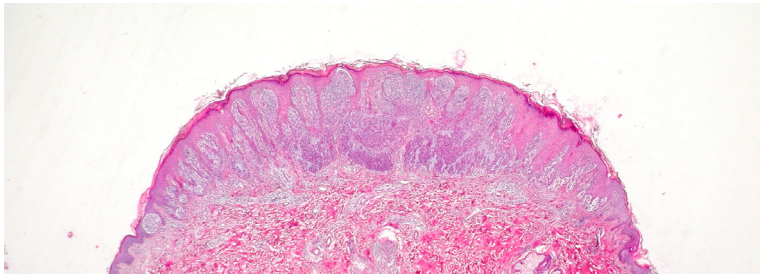
Naevus Spitz vom junktionalen Typ (7433/99):
Ausschnittsvergrößerung mit Darstellung spindeligen und epitheloiden in Nestern angeordneten Melanozyten nicht nur rein basal sondern auch in höheren Epithelschichten. (HE x100)



Naevus Spitz vom junktionalen Typ (7433/99):
Immunhistochemische Doppelfärbung MIB-I/Vimentin; Darstellung der Melanozyten, sowohl Einzelzellen als auch Nester. (MIB-I/Vimentin x20)

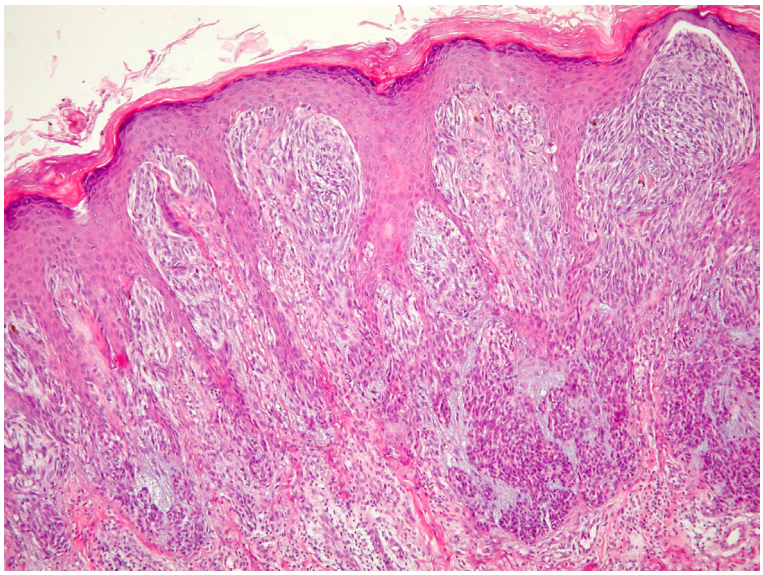


Naevus Spitz vom junktionalen Typ (7433/99):
Doppelfärbung MIB-I/Vimentin; Darstellung von proliferierenden Melanozyten und auch Keratinozyten.



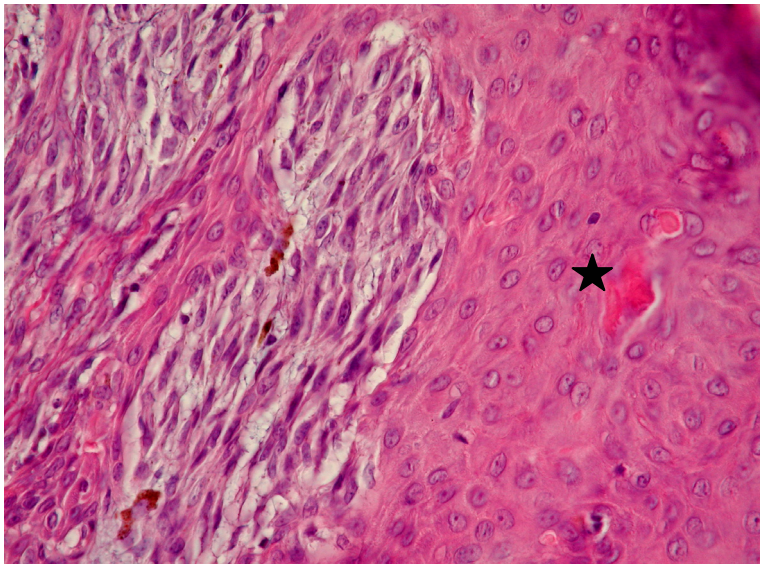
Naevus Spitz vom Compound-Typ (9788/99):

Scharf begrenzter und symmetrisch aufgebauter melanozytärer Tumor (HE x20)



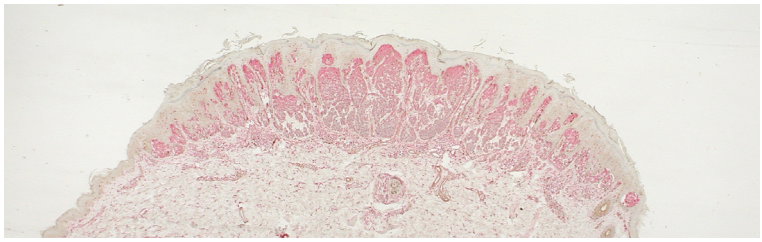
Naevus Spitz vom Compound-Typ (9788/99):

Nester spindelförmiger Melanozyten junktional und dermal gelegen. (HE x40)

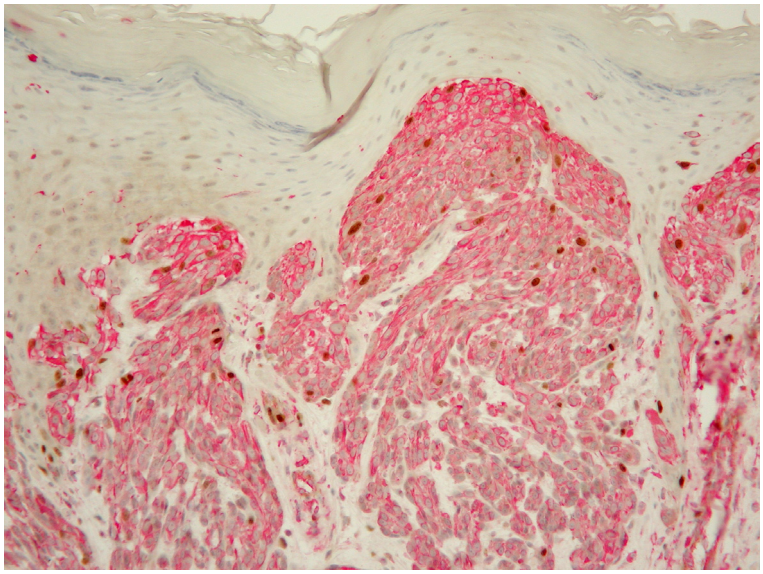


Naevus Spitz vom Compound-Typ (9788/99):

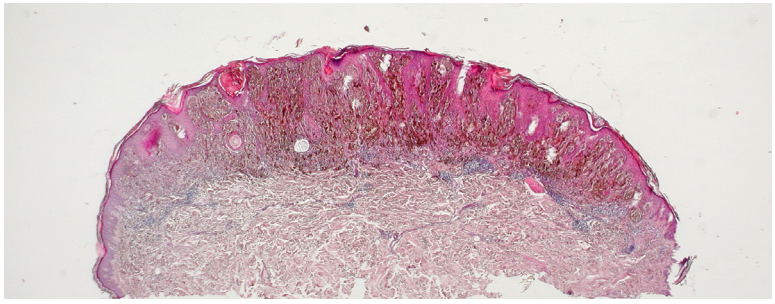
Spindelförmige, fischzugartig in Nestern angeordnete Melanozyten. Nachweis eines Kamino-Bodys (Stern). (HE x200).



Naevus Spitz vom Compound-Typ (9788/99):
Übersichtsvergrößerung (MIB-I/Vimentin x20)

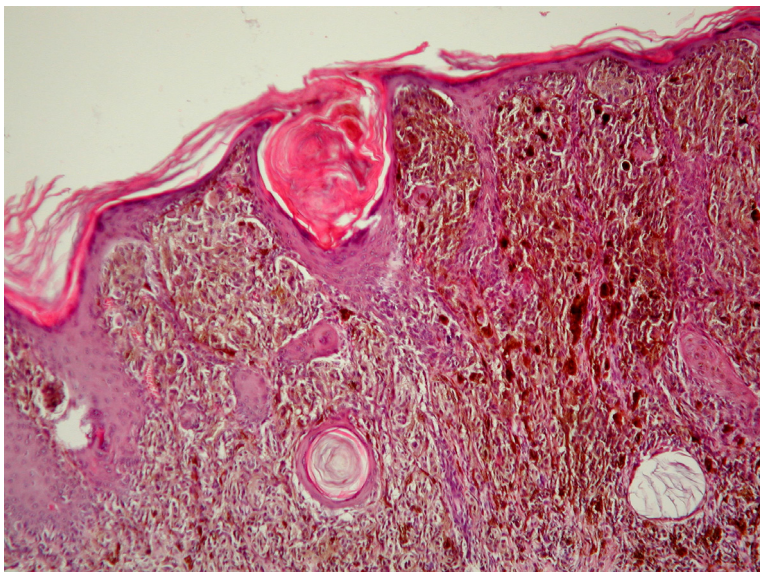


Naevus Spitz vom Compound-Typ (9788/99):
Ausschnittsvergrößerung der in Nestern angeordneten Melanozyten, vereinzelt Nachweis proliferierender Melanozyten (MIB-I/Vimentin x100).



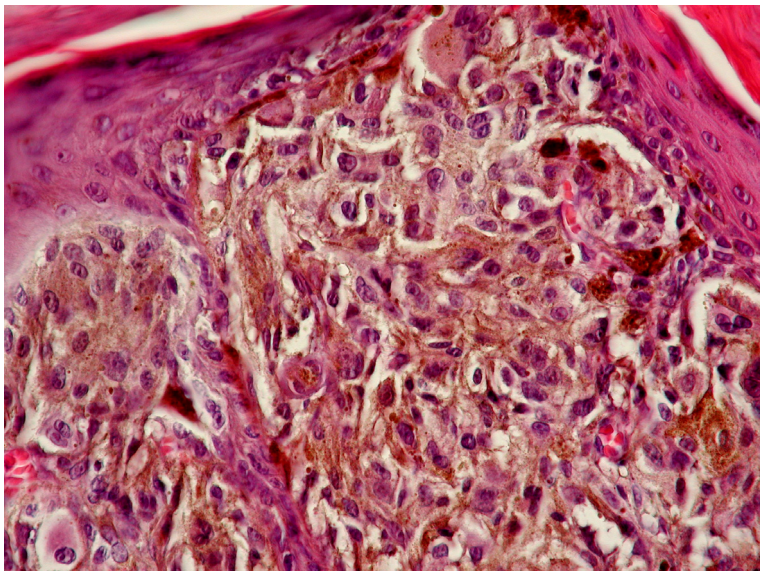
„Spitzoides“ malignes Melanom (11362/00):

Relativ scharf begrenzter und symmetrisch aufgebauter melanozytärer Tumor. (HE x20)

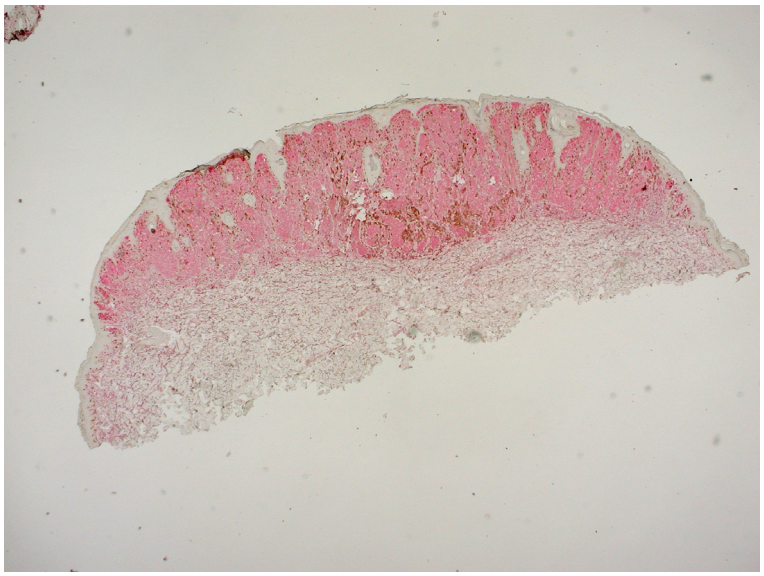


„Spitzoides“ malignes Melanom (11362/00):

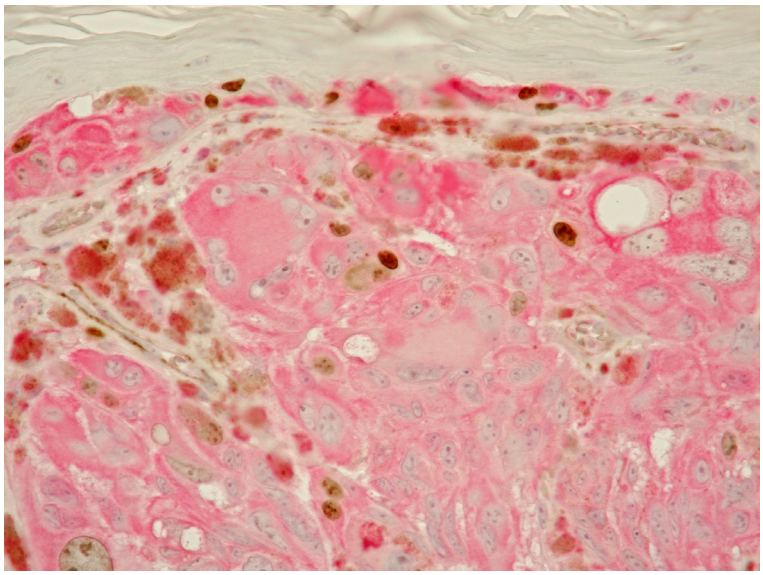
Angedeutet sheet-artiges Wachstum der Melanozyten bis dicht unter die obersten Epidermislagen. (HE x40)



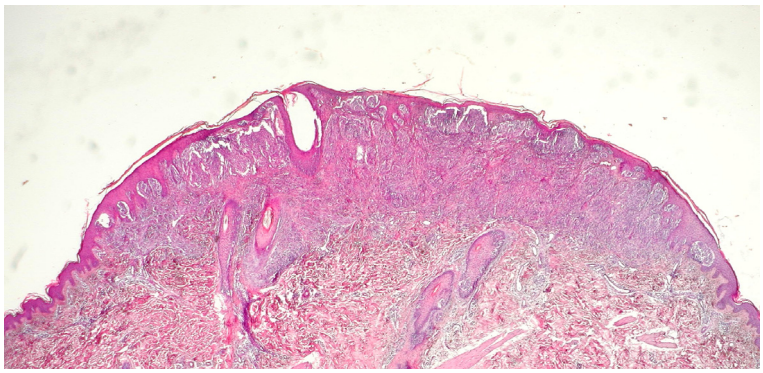
„Spitzoides“ malignes Melanom (11362/00):
Detailaufnahme mit Darstellung von Zellpleomorphie, Zellkernatypien und vereinzelten Mitosen (HE x200).



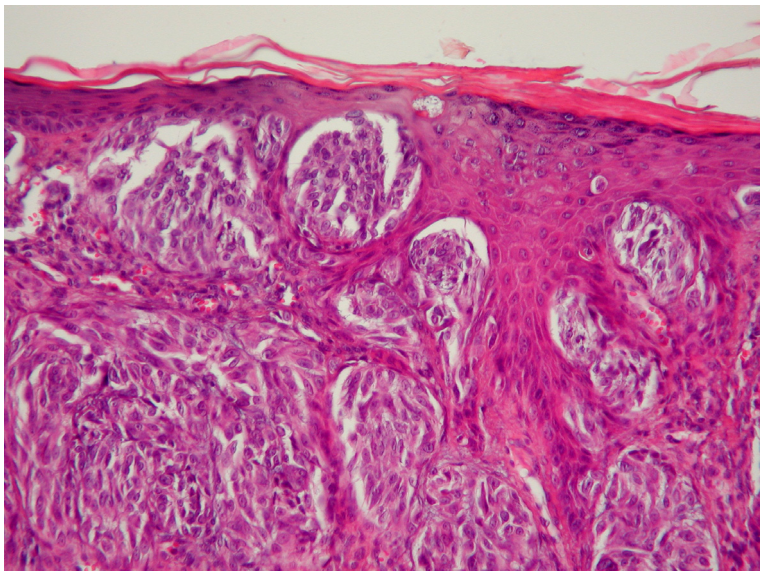
„Spitzoides“ malignes Melanom (11362/00):
Übersichtsvergößerung und Darstellung sheet-artigen Wachstums der Melanozyten (MIB-I/Vimentin x20)



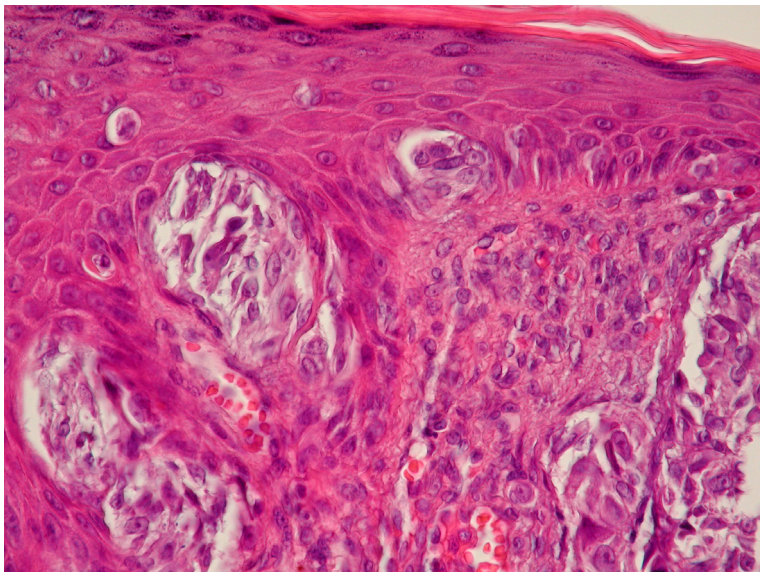
„Spitzoides“ malignes Melanom (11362/00):
Detailaufnahme mit Darstellung vereinzelter proliferierender Melanozyten bei sheet-artigem Wachstum. Nachweis von Zellpleomorphie. Geringe Anzahl proliferierender Melanozyten (MIB-I/Vimentin x200).



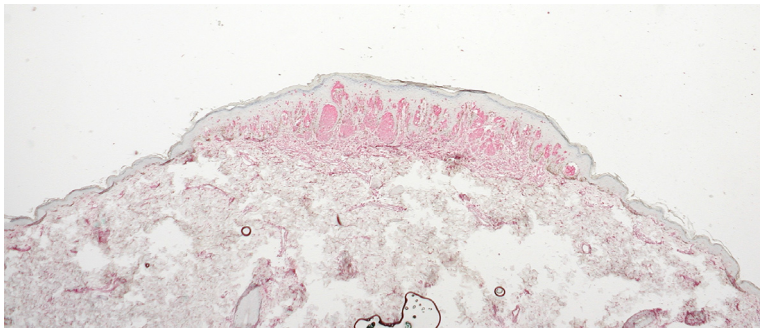
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Scharf begrenzter, symmetrisch aufgebauter melanozytärer Tumor mit architektonischen Merkmalen eines Naevus Spitz. (HE x20)



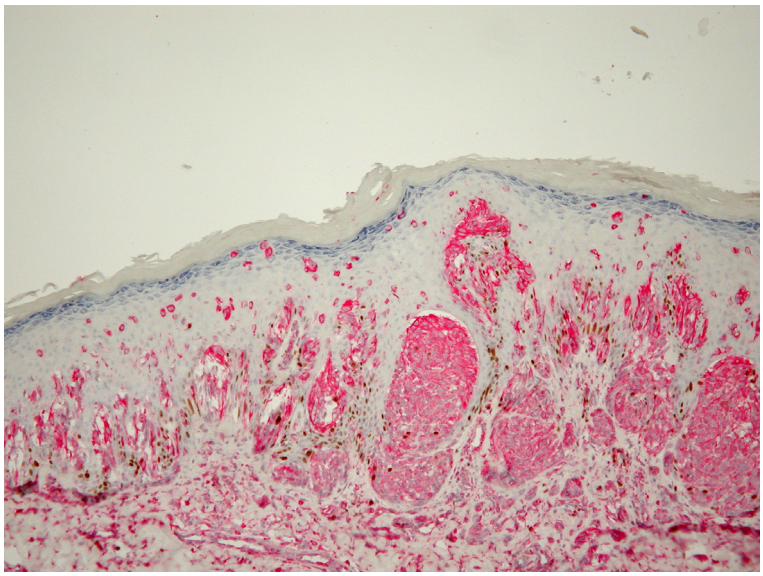
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Ausschnittsvergrößerung mit Darstellung epitheloider bis spindelförmiger Melanozyten vornehmlich in Nestern angeordnet, zum Teil auch aufsteigende Einzelzellen erkennbar. Zusätzliches Konfluieren der Nester. (HE x100)



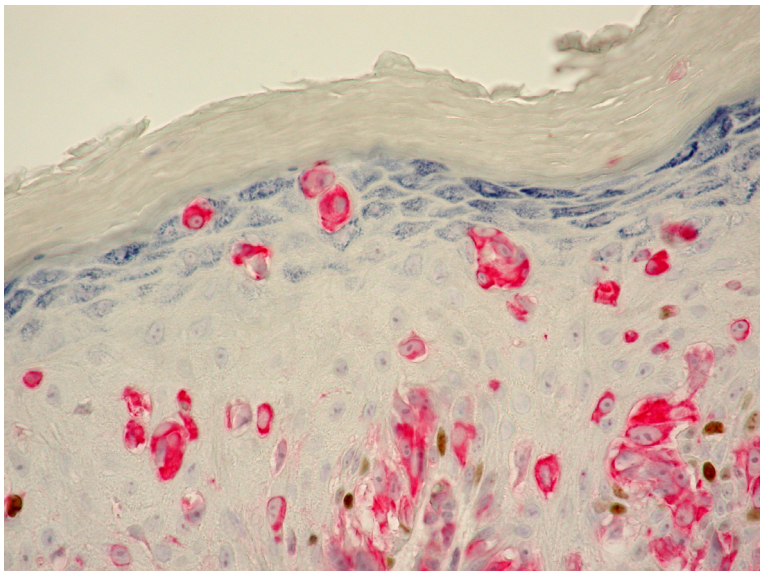
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Detailaufnahme mit Darstellung von Zellpleomorphie, Zellatypien und vereinzelt aufsteigenden Melanozyten (HE x200).



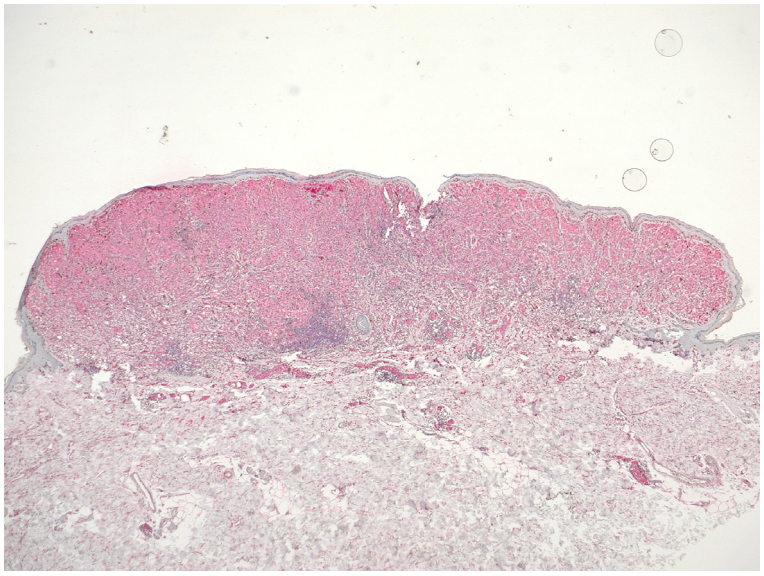
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Übersichtsvergrößerung (MIB-I/Vimentin x20).



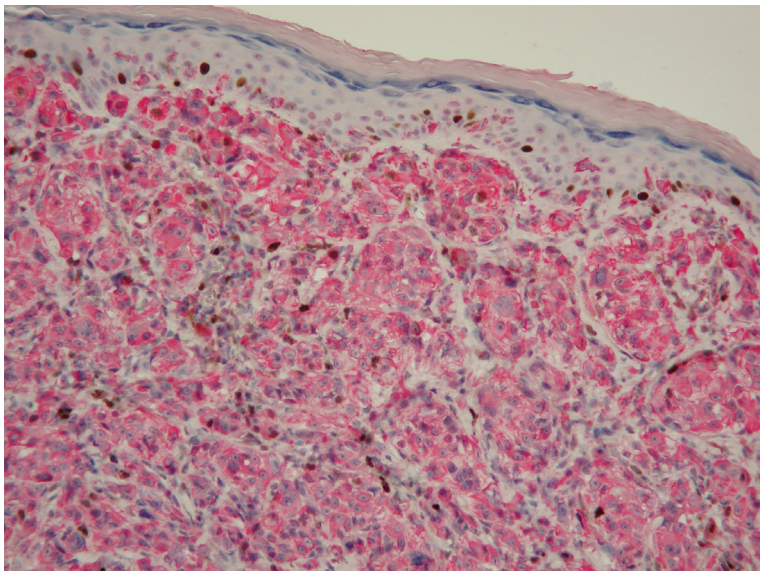
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Ausschnittsvergrößerung mit Darstellung angefärbter Melanozyten und einer Vielzahl aufsteigender Melanozyten in höhere Epidermisschichten (MIB-I/Vimentin x100)



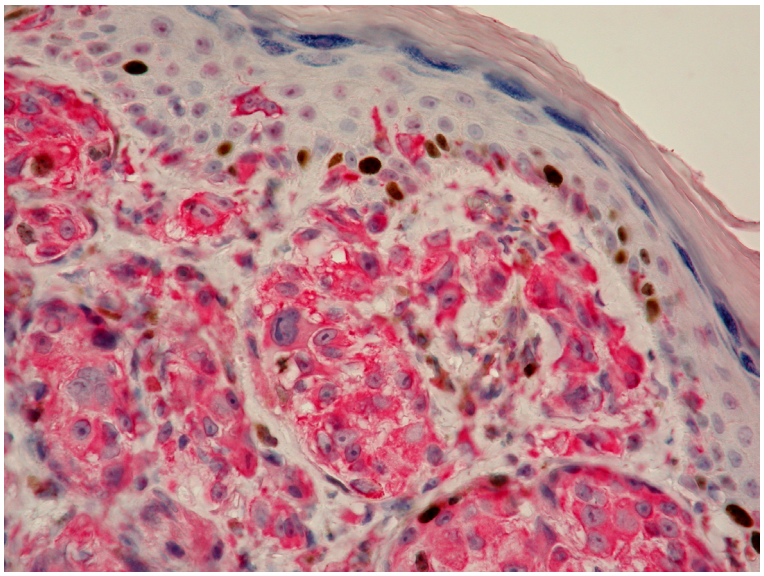
„Spitzoides“ malignes Melanom (14824/00):
Vimentin-positive Melanozyten, die in höhere Epidermisschichten aufsteigen und die Epidermis durchsetzen; jedoch nur wenig Proliferation zeigen (MIB-I/Vimentin x200).



Malignes Melanom, nodulär (19761/00):
Knotig wachsender melanozytärer Tumor (Übersichtsvergrößerung MIB-I/Vimentin x20).



Malignes Melanom, nodulär (19761/00):
In der Ausschnittsvergrößerung zeigen sich dichtgepackte Nester von Melanozyten mit erkennbarer gesteigerter proliferativer Aktivität des Gesamttumors (MIB-I/Vimentin x100).



Malignes Melanom, nodulär (19761/00):
Detailaufnahme mit Darstellung von Zellatypien, Zellpleomorphie und proliferativer Aktivität der Melanozyten (MIB-I/Vimentin x200).

8. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H.H. Wolff, der mir das Thema überlassen hat.

Für seine stete Bereitschaft, mir bei der Durchführung der Arbeit mit Rat und Tat hilfreich zur Seite zu stehen, möchte ich ihm herzlich danken.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Schaller-Atefi, medizinisch-technische Assistentin der Lübecker Universitäts-Hautklinik für Ihre Unterstützung bei der Entwicklung und Durchführung der immunhistochemischen Färbungen.

Desweiteren danke ich Frau Dr. Bettina Kulle, Institut für genetische Epidemiologie, Universität Göttingen, für ihre hilfreiche Unterstützung und Diskussion der statistischen Daten und deren Aufarbeitung. Ebenso danke ich Herrn PD Dr. H.-J. Friedrich für die kritische Durchsicht der statistischen Daten.

Meinem Vater, Prof. Dr. med. H. Mensing, gilt ein besonderer Dank, da er mir zu jeder Minute mit konstruktiven Ideen und seiner Erfahrung und seinem Wissen zur Seite gestanden hat und zusammen mit meiner Mutter, Susanne Mensing, mein größter Förderer ist.

Auch meiner Ehefrau Sonja danke ich für ihr Verständis und das Korrekturlesen.

Curriculum Vitae

Name:	Christian Hartwig Mensing
Adresse:	Scharbeutzerstraße 133 22147 Hamburg
Telefonnummer:	040/2791123 0163/2791123
Geburtsdatum und –ort:	19.02.1976 in Hamburg/Deutschland
Nationalität:	deutsch
Familienstand:	verheiratet
Ausbildung:	**1995** Abitur am Gymnasium Tonndorf in Hamburg A**ugust 1995 - März 1996** Wehrdienst bei der Bundeswehr A**pril 1996 – März 1997** 2 Semester Biologiestudium an der Universität Hamburg (Diplomstudiengang) A**pril 1997 - März 2000** Medizinstudium an der Georg-August Universität Göttingen (Physikum, 1.Staatsexamen) A**pril 2000 – Mai 2003** Medizinstudium an der Medizinischen Universität zu Lübeck **Ende des Medizinstudiums im Mai 2003 mit Absolvieren des 3. Staatsexamens** **September 2003** AiP in der Eduard-Arning-Klinik für Dermatologie und Allergologie AK St. Georg, Hamburg Direktor: PD Dr. med. C. A. Sander

seit Oktober 2004
Anstellung als Assistenzarzt in Weiterbildung
in der Eduard-Arning-Klinik
für Dermatologie und Allergologie
AK St. Georg, Hamburg
Direktor: PD Dr. med. C. A. Sander

Famulaturen:

01.09.1999-30.09.1999
Innere Medizin, Allgemeines Krankenhaus
Wandsbek, Hamburg

28.08.2000-24.09.2000 und
12.03.2001-12.04.2001
Klinik für Dermatologie und Venerologie
Medizinische Universität zu Lübeck

30.07.2001-31.08.2001
Dermatologische Praxis
Prof. Dr. med. Hartwig Mensing (Hamburg)

Praktisches Jahr:

1.Tertial (Innere Medizin)
Forschungszentrum Borstel
Medizinische Klinik
Prof. Dr. med. P. Zabel

2.Tertial (Dermatologie)
University of California, San Francisco
Dermatopathology Section (Prof. P. LeBoit)
Departments of Pathology and Dermatology

Klinik für Dermatologie und Venerologie
Medizinische Universität zu Lübeck
Prof. Dr. med. H.H. Wolff

3.Tertial (Chirurgie)
Medizinische Universität zu Lübeck
(Prof . Dr. med. Bruch)

Royal Brisbane Hospital, Brisbane, Australien
Plastische Chirurgie

Zeugnisse:

Abiturzeugnis
Note: 2,4

Ärztliche Vorprüfung 03/1999
Note: befriedigend (2,66)

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2000
Note: befriedigend

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2002
Note: befriedigend

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2003
Note: befriedigend

Publikationen:

Farbbildkasuistiken

1. ***C. H. Mensing***, H. Mensing
Papulosis maligna atrophicans Degos
Nicht immer maligne!
Hautarzt 2002; 53:42-46

2. ***C. H .Mensing***, S. Krengel, M. Tronnier, H. H. Wolff
RAE - Reaktive Angioendotheliomatosis
Druck 2004
European Journal of Dermatology and Venerology

3. ***C. H. Mensing,*** V. Schleusner, C.A. Sander
Circumscribed palmar or plantar hypokeratosis. 2 Cases of a recently described entity of unknown origin.
Angenommen im American Journal of Dermatopathology als Extraordinary Case Report, Juli 2004

Originalarbeiten

1. ***C. H. Mensing***, H. Mensing
Zur Differentialdiagnose von schmerzhaften Tumoren der Haut ...
Akt Dermatol 2001;27:395-400

2. H. Mensing, J. Ortega, O. Hoch, H.-U. von Sobbe, ***C. H. Mensing***
Hydroactives Polyurethanpflaster zur Behandlung hypertropher Narben und Keloide
Akt Dermatol 2003; 29: 230-235

3. H. Mensing, H.-U. von Sobbe, C. Mensing, ***C. H. Mensing***
Irritationsdermatitis des Gesichts und des Halses
Therapie mit Pimecrolimus Creme 1%
Eingereicht in: Der Hautarzt

4. ***C. H. Mensing,*** H.-U. von Sobbe, H. Mensing
Pimecrolimus (Elidel®) bei steroidinduzierter perioraler/-okulärer Dermatitis.
Eingereicht in: Der Hautarzt

Abstracts

1. O. Hoch, S. Müller, ***C. H. Mensing***, G. Büttner, H. Mensing
Behandlung der generalisierten/disseminierten Kutanen Sarkoidose mit Thalidomid
Poster 231 auf der 41.DDG-Tagung, 1.-5.Mai 2001 in Berlin

2. ***C. H. Mensing,*** H.-U. von Sobbe, C. Mensing, H. Mensing
Irritative dermatitis of face and neck – therapy with pimecrolimus cream 1%
12th EADV Congress in Barcelona 2003

Vorträge:

C. H. Mensing, S. Krengel, M. Tronniere
Reaktive Angioendotheliomatose - ein Fallbericht
Kurzvortrag V112 zur 41.DDG-Tagung in Berlin
Neues und Interessantes 2

C. H. Mensing, S. Krengel, M. Tronnier
Benigne Angioendotheliomatose
Kurzvortrag anlässlich des
11.Hansischen Dermatologentreffen 2002

***C. H. Mensing*,** S. Harder, V. Schleusner, C. A. Sander
Disseminierte Mycobacterium chelonae Infektion mit fraglich parallel bestehender Mycobacterium tuberculosis Infektion.
Herbsttagung der Hamburger Dermatologischen Gesellschaft 2003

C. H. Mensing, C.A. Sander
Zirkumskripte palmare Hypokeratose
ADH-Tagung März 2004 in Düsseldorf

C. H. Mensing, M. Harms, C.A. Sander
Rheumatoide neutrophile Dermatose
Herbsttagung der Hamburger Dermatologischen Gesellschaft 2004