

Aus der Klinik für Augenheilkunde
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti

Das uveale Melanom – diagnostisches Potenzial von zirkulierenden Melanomzellen

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Universität zu Lübeck
– aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von

Friederike Elisabeth Schindler
aus Hamburg

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Recke

Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.2022

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 12.12.2022

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das uveale Melanom	2
1.1.1	Definition und Epidemiologie	2
1.1.2	Ätiologie und Risikofaktoren	3
1.1.2.1	Genetische Veränderungen des uvealen Melanoms	3
1.1.3	Einteilung und Klassifizierung	4
1.1.4	Klinik und Diagnostik	5
1.1.4.1	Symptomatik.....	5
1.1.4.2	Klinisches Bild	6
1.1.4.3	Ultraschalldiagnostik und Ultraschallbiomikroskopie	7
1.1.4.4	Apparative Zusatzdiagnostik	7
1.1.5	Behandlungsmöglichkeiten und Prognose	9
1.1.6	Differentialdiagnosen	10
1.1.6.1	Melanozytäre Läsionen	11
1.1.7	Tumorbiopsie und molekularbiologische Diagnostik.....	14
1.2	Zirkulierende Melanomzellen und Flüssigbiopsie	15
2	Fragestellung und Ziel der Studie	17
2.1	Fragestellungen	17
2.2	Ziel	17
3	Material und Methoden	18
3.1	Datenerhebung	18
3.2	Einschlusskriterien	18
3.3	Ausschlusskriterien	18
3.4	Analysierte Patientendaten	19
3.4.1	Demographische Parameter:	19
3.4.2	Tumormerkmale:.....	20
3.4.3	Daten zur Flüssigbiopsie und ZMZ-Analyse.....	21
3.4.4	Daten zur Tumorbiopsie.....	21
3.5	Methoden	21
3.5.1	Klinisches Vorgehen bei Tumorpatienten in der Augenklinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck.....	21
3.5.2	Ethikvotum.....	22
3.5.3	Statistische Auswertung.....	23

Inhaltsverzeichnis

4	Ergebnisse	24
4.1	Patientenkollektiv	24
4.1.1	Gruppierung.....	24
4.2	Tumormerkmale	27
4.3	Ergebnis ZMZ und Biopsie	29
4.4	Vergleich klinisches Bild und ZMZ	30
4.4.1	Patienten mit negativer Flüssigbiopsie	41
4.5	Vergleich klinisches Bild und Biopsie	43
4.6	Vergleich ZMZ- mit Biopsieergebnis	49
5	Diskussion	51
5.1	Diskussion und Bewertung der Ergebnisse	53
5.2	Diskussion und Bewertung der Methode	62
6	Zusammenfassung	64
7	Abkürzungsverzeichnis	65
8	Tabellenverzeichnis	67
9	Abbildungsverzeichnis	68
10	Literaturverzeichnis	69
11	Danksagung	84

1 Einleitung

Maligne Erkrankungen stellen in allen Bereichen der Medizin eine große diagnostische und therapeutische Herausforderung dar und sind vor allem für den betroffenen Patienten eine starke emotionale Belastung. Häufig fehlen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung schwere Symptome, sodass die Nachricht gewissermaßen ‚aus dem Nichts‘ kommt. Auch in der heutigen Zeit bedeutet die Diagnose einer malignen Erkrankung für die Betroffenen, sich mit dem Gedanken auseinandersetzen zu müssen, an dieser Erkrankung eventuell vorzeitig zu versterben; vor allem, wenn bereits Metastasen vorliegen und diese wichtige Organsysteme zerstören.

In der Ophthalmologie spielen maligne Erkrankungen im Bewusstsein der Bevölkerung meist eine untergeordnete Rolle, da es sich im Vergleich zu anderen Krebserkrankungen um eher seltene Tumoren handelt: Die Inzidenz von Krebs gesamt in Deutschland liegt schätzungsweise bei 483.000, während diejenige von Krebs des Auges bei lediglich 830 liegt.⁽¹²⁾ Innerhalb der Gruppe maligner Augentumoren ist das uveale Melanom (UM) das häufigste Malignom. Therapie und Kontrolle des Primärtumors sind in der Regel sehr erfolgreich. Dennoch versterben im Verlauf der Erkrankung die Hälfte der Patienten an Metastasen, obwohl diese zum Zeitpunkt der Entdeckung und Behandlung des Primärtumors nicht nachweisbar waren. Es ist beim UM davon auszugehen, dass frühzeitig eine Mikrometastasierung stattfindet. Da die erfolgreiche Behandlung des Primärtumors keinen Einfluss auf die Entwicklung von Metastasen und die Lebenserwartung der Patienten hat, besteht derzeit die einzige Möglichkeit, die Prognose zu verbessern, darin, das UM frühzeitig zu entdecken.

In dieser Dissertationsarbeit geht es darum, den Stellenwert einer diagnostischen Methode für das UM zu untersuchen, die bereits in anderen Bereichen der Medizin etabliert ist und womöglich zu einer früheren bzw. sichereren Diagnosestellung und damit zu einer verbesserten Therapie und Prognose für die betroffenen Patienten beitragen kann.

1.1 Das uveale Melanom

1.1.1 Definition und Epidemiologie

Das UM ist eine Erkrankung, bei der es durch die Proliferation von Melanozyten des uvealen Traktes zur Ausbildung einer malignen intraokularen Raumforderung kommt.(67) Es ist das häufigste nicht kutane Melanom und das häufigste primäre intraokuläre Malignom bei Erwachsenen.(25,120,140) Dabei entstehen 90 % der uvealen Melanome aus der Choroidea und jeweils 5 % aus der Iris und dem Ziliarkörper (ZK).(40,66,104)

Nur ungefähr 5 % aller Melanome betreffen das Auge. Von allen malignen okulären Tumoren macht das UM über 85 % der primär okulären Melanome bei Erwachsenen aus. Die übrigen 15 % entfallen auf andere Melanome des Auges, wie z. B. das konjunktivale Melanom (ca. 5 %) oder das sehr seltene Adenokarzinom des retinalen Pigmentepithels.(4,25,46,113) Die insgesamt häufigsten (nicht primären) intraokularen Tumoren sind intraokulare Metastasen maligner Tumoren.(65,108)

Die Inzidenz des UM ist in den letzten Jahrzehnten relativ stabil geblieben, wobei die Zahl an kutanen Melanomen stetig angestiegen ist.(19) Europaweit erkranken zwei bis acht Menschen pro Million und pro Jahr an einem UM.(137) Weltweit liegen die Zahlen bei schätzungsweise 7000 Neuerkrankungen pro Jahr.(107)

Frauen und Männer sind gleichermaßen vom UM betroffen, jedoch neigen Männer dazu, früher und häufiger Metastasen zu entwickeln.(116,142) Der Altersgipfel eines UM liegt zwischen dem 60. und dem 70. Lebensjahr und das mediane Alter bei Erstdiagnose bei 55 Jahren.(25,137)

In 98 % der Fälle sind Kaukasier von einem UM betroffen – Afrikaner und Asiaten erkranken deutlich seltener. Menschen mit einer helleren Irisfarbe zeigen eine höhere Inzidenz des UM.(78,107,137)

Die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten mit einem nicht metastasierten UM liegt bei ca. 80 % und hat sich in den letzten drei Jahrzehnten

nicht verändert.(116) Die mittlere Lebenserwartung bei einem metastasierten UM liegt bei unter einem Jahr, im Mittel zwischen zwei und sieben Monaten.(2,66,129) Bei Erstdiagnose werden in ca. 2 % der Fälle bereits Metastasen gefunden. Patienten mit einem kleinen UM entwickeln in 25–34 % der Fälle, Patienten mit einem mittelgroßen UM in ca. 50 % der Fälle und solche mit einem großen UM in rund 70 % der Fälle in fünf bis zehn Jahren Metastasen. Ein Auftreten von Metastasen wurde noch bis zu 40 Jahre nach Enukleation beschrieben.(129,140) Die Metastasierung erfolgt hämatogen, sofern der Tumor nicht die umliegenden Strukturen wie die Sklera durchbrochen und die Lymphgebiete der Konjunktiva infiltriert hat. In über 90 % der Fälle treten erste Metastasen in der Leber auf,(64,73) in absteigenden Häufigkeit gefolgt von der Lunge, den Knochen und der Haut, sehr selten anderen Organsystemen.(2,39,43)

1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Ätiologie des UM ist immer noch weitestgehend unklar. Das Risiko, an einem UM zu erkranken, steigt mit fortschreitendem Alter und bei Vorhandensein eines uvealen Nävus.(89) Zu den weiteren Risikofaktoren zählen ein heller Hauttyp, okuläre oder okulodermale Melanozytose, kutane Nävi und eine BRCA1-assoziierte Protein-1-Mutation.(63)

Des Weiteren werden eine hohe UV-Licht-Exposition bzw. die Bestrahlung mit intensivem Blaulicht als mögliche Auslöser für die Entstehung eines UM diskutiert.(66,69,124)

1.1.2.1 Genetische Veränderungen des uvealen Melanoms

Eine genetische Prädisposition wird vermutet, da in einigen Fällen eine familiäre Häufung auftritt, jedoch besteht kein eindeutiger Hinweis auf eine erbliche Genese. Die meisten UM treten sporadisch auf.(4,19)

Die Mutation der Gene GNAQ und GNA11 auf Codon 11 sind mit der Entartung von uvealen Melanozyten assoziiert. Eine Aktivierung von GNAQ sichert das Überleben von Melanozyten in der frühen Entwicklungsphase.(135) In 83 % der UM finden sich somatische Mutationen von GNAQ oder GNA11.(136) Man hat zwar herausgefunden, dass die Mutation von GNAQ und GNA11 bei der initialen

Einleitung

Entstehung eines UM beteiligt ist, jedoch besitzt diese keinen prognostischen Wert im Hinblick auf das Überleben von Patienten mit UM.(13)

Im Gegensatz dazu gibt es andere Genmutationen (BAP1, SF3B1, EIFLAX1), die mit der Metastasierungsrate von UM korrelieren.(37,74)

Neben Genmutationen werden Chromosomenaberrationen (z. B. Monosomie 3 bzw. Verlust von 1p, 6q oder 8p oder Trisomie bzw. Zugang von 6p oder 8q) oft als ätiologische Faktoren in der Tumorgenese diskutiert. Eine Chromosom-3-Monosomie beim UM gilt als prognostisch ungünstiger Marker.(34,92,96,118) Zudem besteht ein hohes Risiko für die Entwicklung von Metastasen bei Vorliegen einer Chromosom-3-Monosomie oder einer Chromosom-8q-Trisomie.(44,92,105)

Mit Chromosom-6-Aberrationen ist der Verlauf günstiger. Trisomie und Isochromosom 8q hingegen sind mit einem aggressiven Wachstum und großen Tumoren verbunden.(40,117)

1.1.3 Einteilung und Klassifizierung

Histologisch werden UM in vier verschiedene Klassen eingeteilt: in den Spindelzelltyp und den Epitheloidzelltyp sowie gemischtzellige Melanome, entweder mit Spindelzelldominanz oder mit Epitheloidzelldominanz. Dabei weisen Tumoren des Spindelzelltyps eine bessere Prognose auf als solche des Epitheloidzelltyps.(15,57)

Gemäß des *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) werden UM basierend auf der Dicke des Tumors nach ihrer Größe eingeteilt in kleine (≤ 3 mm), mittlere (> 3 mm) und große (> 5 mm) Tumoren.(79,104)

Die Klassifizierung von UM nach Ausdehnung und Prominenz des Tumors erfolgt mittels der TNM-Klassifikation anhand der aktuellen, 2016 publizierten achten Fassung des AJCC.(5) ‚T‘ beschreibt dabei den Primärtumor, ‚N‘ den Befall der Lymphknoten und ‚M‘ das Auftreten von Fernmetastasen. Klinische Anwendung finden jedoch meist die modifizierten Kriterien der *Collaborative Ocular Melanoma Study* (COMS), welche UM anhand des Durchmessers und der Prominenz des Tumors kategorisieren (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Kriterien der Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS).

	Prominenz	größter Basisdurchmesser
klein	1,0–3,0 mm	5,0–16,0 mm
mittel	2,5–10,0 mm	unter 16,0 mm
groß	über 10,0 mm	über 16,0 mm

1.1.4 Klinik und Diagnostik

1.1.4.1 Symptomatik

Das UM entwickelt sich in 30–40 % der Fälle asymptomatisch und wird in einem Drittel der Fälle bei einer ophthalmologischen Routinekontrolle zufällig entdeckt.(31,32,62,66)

Die Symptome eines UM variieren und sind abhängig von der Größe und Lage des Tumors. Kleine Läsionen können auch bei zentraler Lage bereits zu Sehstörungen oder Gesichtsfeldausfällen führen. Periphere Tumoren bleiben lange Zeit eher asymptomatisch und rufen aufgrund von Komplikationen wie einer begleitenden exsudativen Netzhautablösung, retinalen Ödemen, subretinalen oder retinalen Blutungen und Photopsien eine Visusminderung, Metamorphopsien oder Skotome hervor.(107)

Zu den späten Tumor-bedingten Komplikationen gehören der Skleradurchbruch, die Tumorinvasion in den Kammerwinkel mit konsekutivem Augeninnendruckanstieg sowie die extraokuläre Ausbreitung.(106) Ist die Iris betroffen, so fallen diese Tumoren meist durch einen dunklen Fleck auf der Iris oder durch eine Pupillenverziehung auf. Außerdem ist die Entstehung einer sekundären choroidalen Neovaskularisation möglich, die durch Exsudation und Blutungen zu einer drastischen Sehinderung führt, wenn diese im Makulabereich gelegen ist.(17)

In den meisten Fällen wird ein UM klinisch und ohne Einsatz von invasiven Maßnahmen diagnostiziert.

1.1.4.2 Klinisches Bild

Die Verdachtsdiagnose eines UM wird meist anhand der klinischen ophthalmologischen Untersuchung gestellt.(4) Die Sonographie ist insbesondere notwendig, um die Prominenz des Tumors zu messen.

Weiterhin werden folgende morphologische Charakteristika beurteilt:

- Pigmentierung (ca. 50 % aller UM sind grau bis braun, 15 % sind amelanotisch mit einer gelblichen Farbe, der Rest ist gemischt pigmentiert);(106)
- Vorhandensein von subretinaler Flüssigkeit bzw. exsudativer Amotio retinae;
- *orange pigment*: Lipofuszinansammlung im retinalen Pigmentepithel über dem UM;
- tumorversorgende Wächtergefäße (*sentinel vessels*);
- Drusen (vorhandene Drusen sprechen eher für einen benignen Befund);
- Halo (vorhandener Halo deutet auf benignen Befund hin).



Abbildung 1: Fundusbild einer großen, zentral gelegenen Aderhautläsion mit orange pigment.

1.1.4.3 Ultraschalldiagnostik und Ultraschallbiomikroskopie

Mittels Ultraschall-B-Scan (Abbildung 2) werden die Tumordicke, -basisgröße und -lage bestimmt. Zudem können eine mögliche begleitende exsudative Netzhautablösung und eine extraokuläre Ausbreitung nachgewiesen werden. Im A-Scan stellt sich ein AH-Melanom typischerweise mit einem niedrig- bis mittelreflektiven Binnenecho dar. Typisch ist ein basaler akustisch leerer Bereich durch die größere Gewebehomogenität. Eine ‚Kragenknopf-Konfiguration‘ ist nahezu pathognomonisch und entsteht, wenn das Tumorgewebe von der Choroidea aus die Bruch'sche Membran durchstößt und sich danach weiter in den Glaskörperraum erstreckt.(22,123)

Die Ultraschallbiomikroskopie (UBM) kommt zur Größen- und Lagebestimmung von Tumoren des vorderen Augenabschnittes, also von Iris- oder ZK-Tumoren zum Einsatz. Hier kann unter anderem ein Irisepitheldurchbruch nachgewiesen und die Differenzierung gegenüber einer Iriszyste ermöglicht werden.

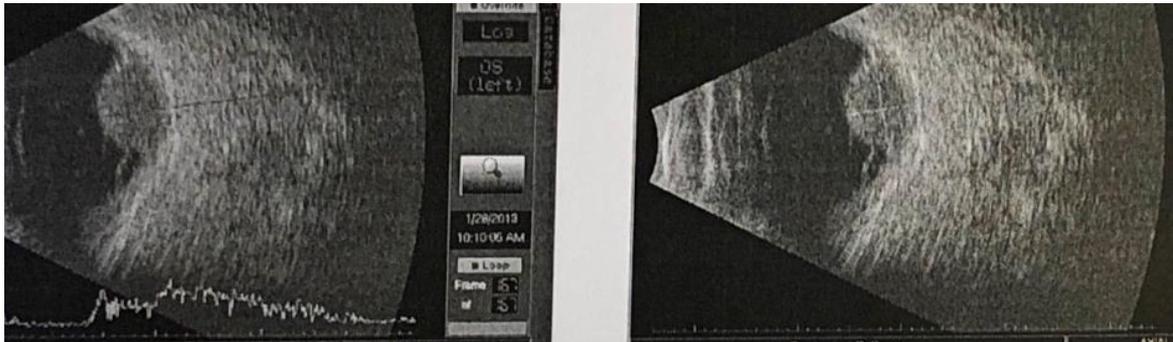


Abbildung 2: Ultraschallbild eines großen Tumors mit Begleitamotio.

1.1.4.4 Apparative Zusatzdiagnostik

Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein bildgebendes Verfahren, um zwei- oder dreidimensionale Aufnahmen sowohl von Netzhaut und Choroidea als auch von Vorderkammer und Iris zu erhalten (Abbildung 3). Auf diese Weise kann oft noch vor der klinischen Manifestation assoziierte subretinale Flüssigkeit einer auffälligen Läsion detektiert werden. Es können außerdem bei sehr flachen Tumoren genauere Verlaufsaufnahmen der Tumorprominenz angefertigt werden,

Einleitung

wenn das Auflösungsvermögen des konventionellen Ultraschalls hierfür noch nicht ausreicht.(45,49,80,123)

Mit Hilfe von Autofluoreszenzaufnahmen können Drusen von *orange pigment* (Malignitätszeichen) unterschieden werden.(100)

Bei flachen Läsionen kann die OCT-Angiographie (OCT-A) als neue Technologie hilfreich sein. Diese kann den choriokapillären Fluss nachweisen. Wahrscheinlich durch die Dicke des Tumors bedingt findet sich beim UM häufig eine hyporeflektiv zentrale Zone. Zudem können ein hyporeflektiver Plexus im Tumor und ein hyperreflektiver Ring um den Tumor für eine maligne Entartung sprechen.(52,126)

Als weitere Diagnostikmittel zur Darstellung der okulären Blutversorgung stehen die Fluoreszein- (FAG) und die Indocyanin-Grün-Angiographie (ICGA) sowie die Irisangiographie zur Verfügung. Diese können die tumoreigene Blutversorgung, sogenannte *vasa propria*, sichtbar machen.(111) Der diagnostische Wert ist aber in Zusammenhang mit den sonstigen klinischen Befunden und für differentialdiagnostische Aussagen gegeben.(123)

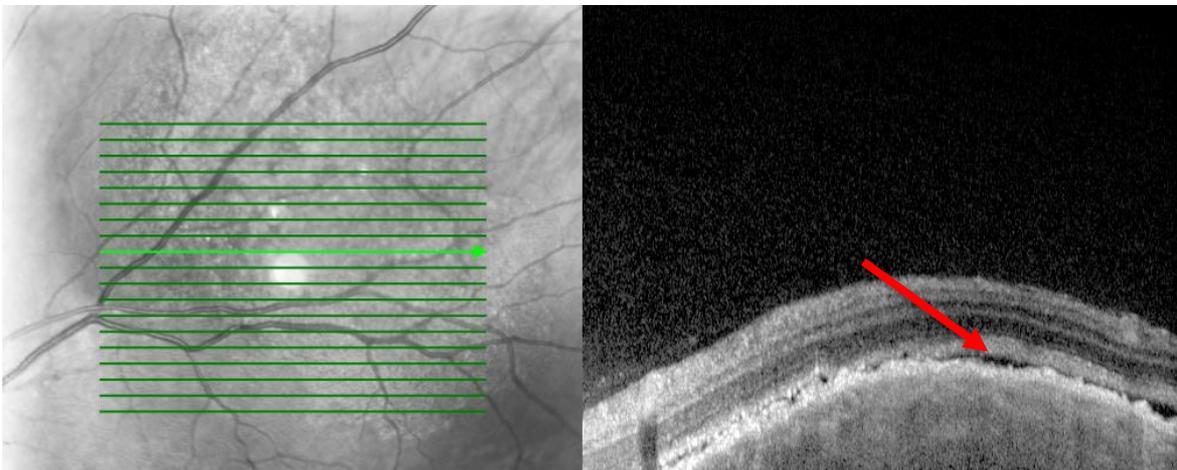


Abbildung 3: OCT-Bild eines Tumors mit subretinaler Flüssigkeit (roter Pfeil).

Weitere bildgebende Verfahren wie die Computer- (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT) haben keinen diagnostischen Wert und dienen vor allem zur Untersuchung auf potenzielle Metastasen, zur Ermittlung einer extraokulären Ausdehnung und zur Therapieplanung im Falle einer

Radiotherapie.(64,140) Die Darstellung von Tumoren mit einer Dicke von weniger als 2 mm gelingt jedoch mittels CT oder MRT nicht.(114)

1.1.5 Behandlungsmöglichkeiten und Prognose

Die therapeutischen Möglichkeiten basieren auf den Grundsätzen der personalisierten Therapie und hängen von der Tumorlokalisation, der TNM-Klassifikation, der Funktion des Partnerauges sowie von Allgemeinzustand und Willen des Patienten ab.

Da die Eukleation keinen Einfluss auf die Entwicklung von Metastasen und die Überlebensrate der Patienten hat, ist das heutige Ziel die Erhaltung des Auges und wenn möglich auch der Sehschärfe.(38)

Zu den bulbuserhaltenden Maßnahmen zählt die transpupilläre Thermotherapie (TTT), bei welcher der Tumor (maximale Tumordicke von 3,5 mm und Tumorausdehnung von unter 10 mm) mit einem Diodenlaser bestrahlt wird und eine lokale Hyperthermie zu Nekrose und Tumorschrumpfung führt.(88)

Bei amelanotischen Läsionen und bei einer Optikusbeteiligung des Tumors ist eine TTT nicht empfehlenswert.(110) Zudem zeigen Langzeitstudien eine relativ hohe Lokalrezidivrate von bis zu 20 % in den ersten drei Jahren.(75,110)

Die Radiotherapie ist, abhängig von Größe und Lage des Tumors die häufigste bei einem UM angewandte Therapieform. Sie kann entweder als Brachytherapie für Tumoren mit einer Prominenz von weniger als 8 mm, mit einem episkleral aufgenähten, radioaktiven Applikator in direkter Nähe des Tumors oder als Teletherapie mittels Protonenbestrahlung oder stereotaktischer Röntgenstrahlung angewendet werden. Die letztgenannte Option ist dann ratsam, wenn der Tumor sehr nahe am *Nervus opticus* oder der Fovea lokalisiert ist oder eine Prominenz von über 8 mm hat.(70,109) Auch die selteneren Iris- oder ZK-Melanome können mit der Radiotherapie behandelt werden.(66,91)

Nicht selten wird die Bestrahlung als neoadjuvante Therapie eingesetzt, um eine chirurgische Resektion vorzubereiten, oder wenn der radiogen induzierte Tumorzerfall (Tumornekrosesyndrom) zu weiteren Komplikationen führt. Die Resektion kann im Rahmen einer Vitrektomie als Endoresektion oder *ab externo*

(Exoresektion) erfolgen, wenn der Tumor z. B. weit anterior lokalisiert ist.(20) Dieses Verfahren erfordert aufgrund seiner hohen technischen Anforderungen erfahrene Ophthalmochirurgen. Häufigste Komplikationen bei diesem Verfahren sind Glaskörperblutungen, eine proliferative Vitreoretinopathie sowie Netzhautablösungen.(16,30,33,35)

Nicht bulbuserhaltend sind die chirurgischen Verfahren der Eviszeration (Entfernung des Augeninhalts), der Enukleation (Entfernung des gesamten Augapfels mit Anteilen des *Nervus opticus* unter Erhalt der Augenmuskeln) oder der orbitalen Exenteration (Entfernung des gesamten Inhalts der Augenhöhle).(20)

Die primäre Enukleation kommt bei sehr großen Tumoren, bei skleralem Durchbruch oder im Falle einer Infiltration des *Nervus opticus* zum Einsatz. Bei sehr großen Tumoren mit Orbitainfiltration wird oft eine orbitale Exenteration gewählt.(48,99)

Bestrahlung und chirurgische Therapie haben ähnliche Mortalitätsraten und somit keinen Einfluss auf die Prognose.(7,72,82)

Die bisher größte, kontrollierte und randomisierte Studie zum UM (COMS) belegt, dass die Erhaltung des Auges durch eine Brachytherapie keinen negativen Einfluss auf die Prognose und Lebenserwartung der Patienten hat.(38) Diese ist vielmehr von der Tumorgöße und der Crescendo-Malignität des UM abhängig. Die von der Tumorgöße abhängige Wahrscheinlichkeit von 30–70 %, an Metastasen zu erkranken und zu versterben, bleibt jedoch unverändert.(36,38)

Die einzige Option, die Prognose der Patienten zu verbessern, ist somit die Früherkennung und frühzeitige Behandlung des Malignoms. Da die Therapie jedoch einschneidende Folgen für die Funktion des betroffenen, häufig asymptomatischen Auges haben kann, ist die Differentialdiagnose insbesondere im Hinblick auf eine möglichst frühzeitige Behandlung von weitreichender Bedeutung.

1.1.6 Differentialdiagnosen

Die frühzeitige Erkennung und Differenzialdiagnose des UM spielen eine wesentliche Rolle für das weitere Vorgehen und somit die Prognose des Patienten.

In der Regel können erfahrene Ophthalmologen anhand der oben genannten klinischen Untersuchungsmöglichkeiten ein UM im fortgeschrittenen Stadium nahezu sicher diagnostizieren. Schwieriger wird es bei kleinen und/oder amelanotischen Befunden. Zu den möglichen und häufigsten Differentialdiagnosen, auch als Pseudomelanome bezeichnet, gehören uveale Nävi, kongenitale Hypertrophien des retinalen Pigmentepithels, periphere exsudativ-hämorrhagische Chorioretinopathien, subretinale Blutungen, choroidale Hämangiome, die pseudotumoröse altersbedingte Makuladegeneration sowie retinale Pigmentepithelhyperplasien.(107)

1.1.6.1 Melanozytäre Läsionen

Die häufigste intraokulare melanozytäre Läsion ist der Aderhaut (AH)-Nävus, der aus gutartigen, aber atypischen uvealen Melanozyten besteht.(67,94,141) Der Übergang von einer benignen melanozytären Läsion mit atypischen Melanozyten zu malignen Melanomzellen oder einer Neuentstehung von Melanomzellen aus originären Melanozyten ist bisher nicht ergründet.

AH-Nävi sind die häufigsten intraokularen benignen Tumoren bei Kaukasiern. Die Prävalenz ist in mehreren Studien untersucht und betrug 4–6 %.(26,53,61,83,85,93,122) Diese Studien umfassten insgesamt 2400 Patienten, die älter als 40 Jahre waren. Es wurde kein Prävalenzunterschied zwischen den Geschlechtern gefunden. Am Beispiel der NHANES-Studie, die nur Auswertungen von 45°-Abbildungen um die Fovea und um die Papille analysierte, zeigt sich, dass die Auswertung nur einen kleinen Teil des Augenhintergrundes umfasst. Die Autoren der Studie vermuteten deshalb, dass die tatsächliche Prävalenz von AH-Nävi bei 20–25 % liegen könnte. Dies wird ebenfalls durch ältere histologische Untersuchungen mit allerdings kleinerer Patientenzahl vermutet.(56,84)

Um einen AH-Nävus von einem möglichen AH-Melanom zu unterscheiden oder um die mögliche maligne Transformation eines AH-Nävus zu detektieren, wurde lange Zeit die von der Forschungs-Gruppe um Professorin Carol L. Shields vorgeschlagene Regel *To find small ocular melanoma using helpful hints daily*

Einleitung

(TFSOM-UHHD) angewendet.(103) Die Abkürzung der TFSOM-UHHD-Regel lässt sich dabei wie in Tabelle 2 dargestellt auflösen:

Tabelle 2: TFSOM-UHHD-Regel.

	<i>Hazard ratio</i>
Thickness (Tumordicke >2mm)	2
Fluid (subretinale Flüssigkeit)	3
Symptoms	2
Orange pigment	3
Margin < 3 mm to the optic disk (Papillennähe)	2
Ultrasonographic Hollowness (Ultraschallabschwächung)	3
Halo absence (Abwesenheit von Halo)	6
Drusen absence (Abwesenheit von Drusen)	keine Angabe

Diese Merkmale waren signifikant häufiger bei melanozytären Läsionen zu finden, die sich vergrößerten und damit als maligne Melanome der AH klassifiziert wurden. Ein Schwachpunkt dieser Arbeit ist jedoch, dass die Annahmen nicht histologisch überprüft wurden. Shields et al. haben eine kürzlich veröffentlichte, sehr große Serie von AH-Nävi noch einmal reevaluiert und dabei schwerpunktmäßig die multimodale Bildgebung berücksichtigt.(101) Signifikante Befunde der Auswertung waren Dicke der Läsion im Ultraschall, Nachweis von subretinaler Flüssigkeit im OCT, symptomatische Visusverschlechterung, *orange pigment* (Lipofuszin) in der Autofluoreszenz, Ultraschallabschwächung (*acoustic hollowness*) und ein basaler Tumordurchmesser von über 5 mm.

Tabelle 3 zeigt multivariate Kaplan-Meier-Schätzungen für das Risiko eines Wachstums bei Vorliegen dieser Merkmale:(101)

Einleitung

Tabelle 3: TFSOM-DIM-Regel.

Faktor	Variable	multimodales Bildverfahren	Hazard ratio
T	<i>Thickness (> 2 mm)</i>	Ultraschall	3,8
F	<i>Fluid subretinal</i>	OCT	3,0
S	Symptoms (visual acuity \leq 20/50)	Snellen Visustafel	2,3
O	<i>Orange pigment</i>	Autofluoreszenz	3,1
M	<i>Melanoma hollowness</i> (Ultraschallabschwächung)	Ultraschall	2,1
DIM	<i>Diameter > 5 mm</i>	Foto	1,8

Diese Risikofaktoren lassen sich mit dem modifizierten Merksatz *To find small ocular melanoma doing imaging* (TFSOM-DIM) zusammenfassen.

Die Risikoquoten (*hazard ratio*) bei Zutreffen einer oder mehrerer Variablen ergeben sich wie in Tabelle 4 dargestellt:

Tabelle 4: Risikoquote für Wachstum in fünf Jahren.

Zahl der Variablen	Wachstum in 5-Jahres-Kaplan- Meier-Analyse	Hazard ratio für Wachstum in fünf Jahren
0	1 %	0,8
1	11 %	3,1
2	22 %	10,6
3	34 %	15,1
4	51 %	15,2
5	55 %	26,4

In einer zweiten Analyse am gleichen Patientengut haben Shields et al. gezeigt, dass jede Zunahme an Tumordicke ein erhöhtes Risiko für ein Wachstum bedeutet. Das größte Risiko besteht für melanozytäre Läsionen, deren Dicke von \leq 2,0 mm auf $>$ 2,0 mm zugenommen hat.(102)

1.1.7 Tumorbiopsie und molekularbiologische Diagnostik

Die Tumorbiopsie ist eine mögliche, jedoch invasive Maßnahme zur Sicherung der Diagnose.(1) Die Biopsie wird insbesondere bei grenzwertigen Befunden angeboten, wenn die Therapieentscheidung relevante visusbeeinträchtigende Komplikationen hervorrufen kann, insbesondere bei zentralen Läsionen.

Eine Biopsie kann transskleral (als Feinnadelbiopsie), transvitreal mittels Pars-plana-Vitrektomie oder transkorneal bei Iristumoren durchgeführt werden.(112,115) Aufgrund des hohen Risikos für visusbedrohende Komplikationen wird sie jedoch trotz verfeinerter Technik nur selten durchgeführt.(17,60) Eine genaue Risiken-Nutzen-Abwägung und ausführliche Patientenaufklärung müssen daher immer erfolgen.

Problematisch in der Bewertung der Probenbiopsie ist eine heterogene Tumorstruktur aus benignen und malignen Anteilen, aus der ein falsch negatives Ergebnis resultieren kann.(9) Zudem kann sie ergebnislos sein, wenn zu wenig Probematerial für die pathologische Aufarbeitung entnommen werden konnte oder das wenige Material im Rahmen der Aufarbeitung verloren geht.

Das gewonnene Material kann histologisch aufgearbeitet werden oder mittels *gene expression profiling* (GEP) genetisch untersucht werden. Die Darstellung der Hoch- bzw. Herunterregulation von Genen oder von Chromosomenanomalien und des damit verbundenen metastatischen Potenzials dient der Patientenführung und der Planung der Kontrollintervalle.(55,87)

Mittels GEP kann ein UM zusätzlich in unterschiedliche Mortalitätsrisikoklassen eingeteilt werden:

- Klasse 1A: sehr niedriges Risiko (2 % in fünf Jahren),
- Klasse 1B: niedriges Risiko (21 % in fünf Jahren),
- Klasse 2: hohes Risiko (72 % in fünf Jahren).

1.2 Zirkulierende Melanomzellen und Flüssigbiopsie

Eine neuere, sich langsam etablierende Diagnostik in der Onkologie ist die sogenannte Flüssigbiopsie zur Untersuchung auf zirkulierende Tumorzellen (ZTZ) oder deren Surrogate im Blut. Der Vorteil der Flüssigbiopsie ist die geringe Invasivität, die Wiederholbarkeit und die Unabhängigkeit vom Primärtumor.

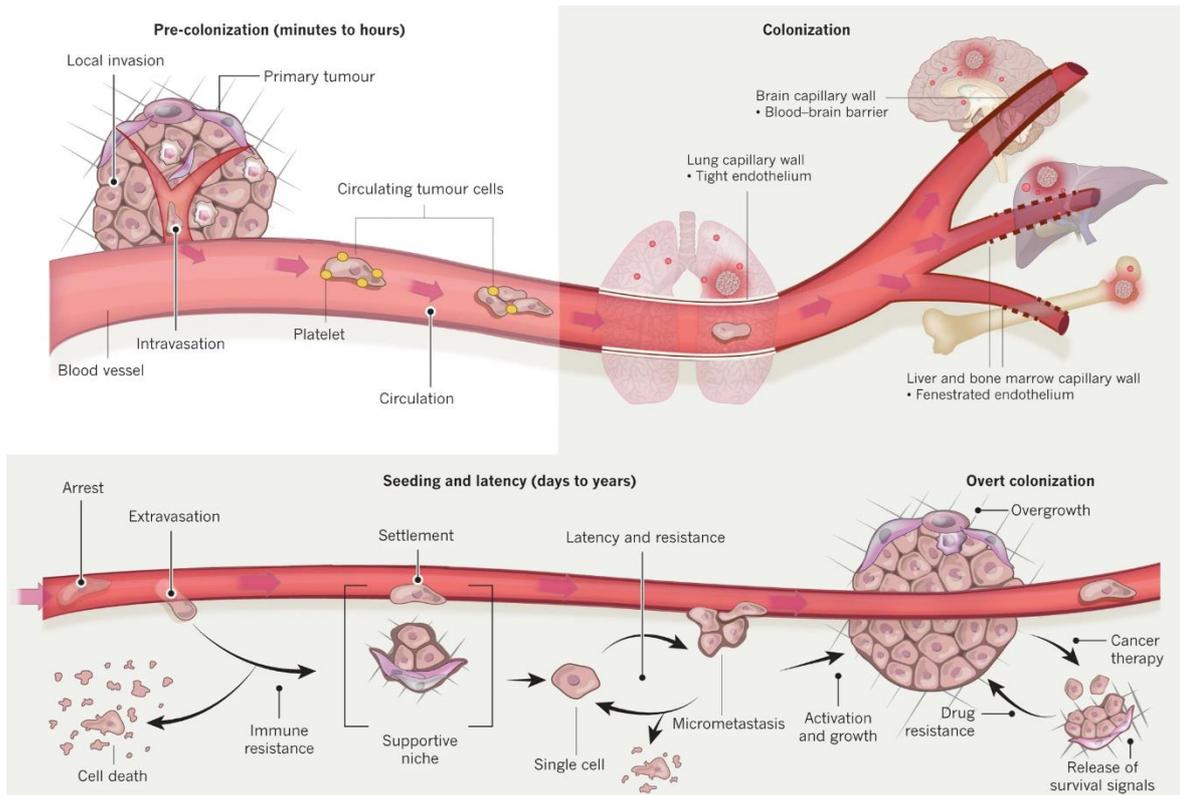


Abbildung 4: Schema metastatischer Kolonialisierung zirkulierender Tumorzellen.(76)

ZTZ sind seltene, genetisch und phänotypisch heterogene Zellen, die im peripheren Blut von Krebspatienten gefunden werden können. Erstmals beschrieben wurden diese 1869 von Thomas Ashworth anhand einer Blutprobe eines Patienten mit metastasiertem Malignom. Die Detektion von ZTZ im Patientenblut wird im englischen Sprachgebrauch als *liquid biopsy* (zu Deutsch ‚Flüssigbiopsie‘) bezeichnet, da hierfür keine klassische Gewebeprobe aus dem Primärtumor benötigt wird.(8,71,81) Nach heutigen Erkenntnissen korreliert die Anwesenheit von ZTZ im Blut mit einer ungünstigen Prognose. Mehrere Studien haben gezeigt, dass

Einleitung

die Messung von ZTZ eine Einschätzung der Behandlungseffektivität bei verschiedenen Tumoren erlaubt.(23,28,29)

Im Blut von Patienten mit UM wurden ZTZ bzw. zirkulierende Melanomzellen (ZMZ) erstmals 1969 mittels Mikroskopie gefärbter Präparate nachgewiesen.(59)

Erst viele Jahre später folgten weitere Arbeiten, die den Nachweis von ZMZ mittels RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*) erbrachten.(125) Bei dieser Methode handelt es sich allerdings um eine indirekte Detektion von ZMZ, da nicht die Zellen an sich nachgewiesen werden, sondern tumorspezifische RNA-Moleküle wie z. B. für Tyrosinase. Die Ergebnisse dieses Verfahrens zeigen jedoch eine sehr hohe Bandbreite (0–97 %) mit einer geringen Sensitivität.(21,47,97,125) Weiterhin erlaubt diese Technik keine Aussage über weitere Eigenschaften der ZMZ.

Im Gegensatz dazu können durch die Isolation von ganzen Zellen molekularbiologische Bestimmungen und Untersuchungen des Karyotyps durchgeführt werden. Es gibt unterschiedliche Methoden, ganze Zellen zu isolieren. Die immunmagnetische Isolation mit Antikörpern und magnetischen *beads* (‘Perlen’) ist dabei eine mögliche Methode.(138)

Mit diesem Verfahren gelang es erstmals 2004, ZMZ über das Melanom-assoziierte Chondroitin-Sulfat-Proteoglycan (MCSP) zu isolieren.(134) Im weiteren Verlauf konnten mit dieser Technik bei 19 % der UM-Patienten ohne klinisch manifeste Metastasen ZMZ nachgewiesen werden.(133) Durch eine Weiterentwicklung des Assays mit der Verwendung einer Doppelmarkierung (NKI/beteb und NKI/C3) konnte die Sensitivität deutlich erhöht und in 93,5 % der untersuchten UM-Patienten ZMZ gefunden werden.(130)

Der Nachweis von ZMZ auch bei kleinen Tumoren lässt vermuten, dass beim UM eine Dissemination von Tumorzellen frühzeitig einsetzt. Da ZMZ in fast allen UM-Patienten nachgewiesen wurden, kann ebenfalls vermutet werden, dass eine Metastasierung, die in ungefähr 50 % der UM-Patienten auftritt, nicht ausschließlich auf der Freisetzung von ZMZ in den Systemkreislauf basiert, sondern auch auf der Fähigkeit von ZMZ, im Kreislauf zu überleben, Organe zu besiedeln und dort zu proliferieren.(113,127)

2 Fragestellung und Ziel der Studie

In dieser retrospektiven Datenanalyse wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

2.1 Fragestellungen

1. Korreliert der Nachweis von ZMZ mit dem klinischen Bild?
2. Korreliert das Ergebnis der Probebiopsie mit dem klinischen Bild?
3. Korreliert der Nachweis von ZMZ mit dem Ergebnis der Probebiopsie?
4. Kann die Flüssigbiopsie die Probebiopsie beim UM ersetzen?

2.2 Ziel

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zu klären, ob die Untersuchung auf ZMZ aus dem Blut bei Vorliegen einer verdächtigen melanozytären Läsion hilfreich ist, diese frühzeitig als Melanom zu erkennen und die Entscheidung für eine zusätzliche Probebiopsie zu erleichtern oder gar auf diese zu verzichten und direkt die Therapie einzuleiten.

3 Material und Methoden

3.1 Datenerhebung

Es wurden retrospektiv Daten der elektronischen Akte von Patienten analysiert, die während der ambulanten Untersuchung oder des stationären Krankenhausaufenthaltes in der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck, innerhalb eines Zeitraums von 2012 bis 2021 erhoben wurden.

Die entsprechenden Patientenakten wurden eingesehen und nach den folgenden Kriterien in die Studie eingeschlossen:

Es wurden insgesamt 140 Patienten, bei denen eine auffällige melanozytäre Läsion vorlag, im o.g. Zeitraum auf ZMZ untersucht.

Es wurden weitere 24 Patienten, bei denen eine negative Flüssigbiopsie und eine nicht sehr auffällige melanozytäre Läsion vorlag, untersucht. Diese Patienten sind gesondert unter 4.4.1 aufgeführt und wurden nicht in die Gesamtstatistik miteinbezogen.

3.2 Einschlusskriterien

- Patienten, die bei einem suspekten uvealen Tumor einer Tumorbiopsie erhalten haben;
- Patienten mit einem suspekten uvealen Tumor und mindestens einmaliger Untersuchung auf ZMZ aus dem Blut.

3.3 Ausschlusskriterien

- ein bereits diagnostiziertes UM,
- ein vorbehandeltes UM.

3.4 Analysierte Patientendaten

3.4.1 Demographische Parameter:

- Patientenalter bei Tumorbiopsie / erster Flüssigbiopsie (in Jahren),
- Geschlecht (weiblich / männlich),
- betroffenes Auge (rechts / links),
- anderes Karzinom (ja / nein),
- Metastasen (ja / nein),
- Therapie (Radiotherapie / TTT / Enukeation / Endoresektion / kontrolliertes Abwarten (*watch and wait*) / Ablehnung der Behandlung durch den Patienten),
- Patient verstorben (ja / nein).

3.4.2 Tumormerkmale:

- maximaler Tumordurchmesser (Basis ‚B1‘ und Basis ‚B2‘) und Tumordicke in Millimetern (bei AH-Läsionen gemessen mittels Sonographie und OCT, bei Iris- oder ZK-Läsionen mittels UBM),
- Tumordurchmesser > 5 mm (ja / nein),
- Größenwachstum (ja / nein),
- Symptome [Visusminderung und/oder Photopsien, Metamorphopsien, Skotome] (ja / nein).

Bei AH-Läsionen:

- subretinale Flüssigkeit des Tumors (ja / nein),
- *orange pigment* des Tumors (ja / nein),
- Drusen am Tumor (ja / nein),
- Halo am Tumor (ja / nein).

Bei Iris-/ZK-Läsionen:

- Pupillenverziehung (ja / nein),
- sektorielle Katarakt (ja / nein),
- *sentinel vessels* (tumorversorgende Wächtergefäße) (ja / nein).

3.4.3 Daten zur Flüssigbiopsie und ZMZ-Analyse

- Zeitpunkt der Blutentnahme (Datum: Monat / Jahr),
- ZMZ positiv (ja / nein) [Positivität für die Melanommarker HMB45, MCSP, NKI/beteb oder NKI/C3],
- ZMZ mit Monosomie 3 (ja / nein) [als positiv gewertet wurde, wenn mindestens eine Zelle der ZMZ Monosomie 3 aufwies].

3.4.4 Daten zur Tumorbiopsie

- Datum der Biopsie (Monat / Jahr),
- Biopsie positiv = malignes Melanom (ja / nein / zu wenig Material) [als positiv wurde eine Biopsie gewertet, wenn in der histopathologischen Untersuchung maligne Tumorzellen passend zu einem UM nachgewiesen werden konnten. Die histopathologische Untersuchung erfolgte durch ein zertifiziertes Labor (Hämatopathologie Lübeck, Deutschland)].

3.5 Methoden

3.5.1 Klinisches Vorgehen bei Tumorpatienten in der Augenklinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck

Bei unserer Studie handelt es sich um eine retrospektive Kohortenstudie.

Die Datenauswertung wurde aus einer vorgegebenen Anzahl von Patienten durchgeführt.

In der Universitätsaugenklinik Lübeck wurde nach vorheriger Aufklärung und schriftlicher Einwilligung bei allen Patienten mit verdächtigen Läsionen eine Untersuchung auf ZMZ durchgeführt. Die hierfür angewendete Methode ist die immunmagnetische Zellisolierung aus 50 ml Vollblut mittels Doppelmarkierung von NKI/beteb oder NKI/C3, welche Markerproteine sind, die gegen das Melanom-assoziierte Glykoprotein gerichtet sind. Bei diesem Anreicherungstest werden isolierte mononukleäre Blutzellen mit Mausantikörpern gegen die Melanommarker NKI/beteb und NKI/C3 gemischt. Die Antikörper-gebundenen Zellen wurden unter

Verwendung von magnetischen Immunperlen eluiert, die an Anti-Mausantikörper gekoppelt waren. Die isolierten Zellen wurden dann als Cytospins verarbeitet (Cytospins sind spezielle Zentrifugen zur Verarbeitung von Zellproben für die Mikroskopie). Die Sensitivität der immunmagnetischen Zellisolation wurde bestimmt, indem normales Blut mit 92.1 UM-Zellen versetzt wurde (Konzentrationsbereich $1-10^4$ Zellen/ml).(130) ZMZ auf den Cytospins wurden mittels Immuno-FISH (*Fluorescent In-situ Hybridisation*) - Assay nachgewiesen, der die Kodetektion der gesuchten Proteine mit Chromosomen ermöglicht. Dazu wurden die Cytospins zunächst mit den primären Mausantikörpern gegen die Melanommarker HMB45, MCSP, NKI/beteb oder NKI/C3, gefolgt von fluoreszenzmarkierten Sekundärantikörpern für die Immunzytochemie aufgearbeitet. Als positive und negative Kontrollen wurden die Cytospins der kultivierten UM-Zelllinie 92.1 verwendet. Um die Immunfärbung zu erhalten, wurden die Zellen zehn Minuten in Methanol und eine Minute in 2% Paraformaldehyd in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung nachfixiert. Für die FISH wurde eine fluoreszenzmarkierte Zentromersonde für Chromosom-3 verwendet.(128) Die Zellen wurden dann unter einem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht. Die Spezifität der Markerproteine für die UM-Zellen wurde zuvor verifiziert.(130,132) Die Patienten wurden darüber aufgeklärt, dass es sich um eine neuartige, noch nicht etablierte Methode handelt und ein Nachweis von ZMZ nicht mit einer Metastasierung gleichzusetzen ist.

Bei nicht eindeutigen klinischen Befunden oder zentral gelegenen Tumoren, deren Therapie eine Funktionsbeeinträchtigung erwarten lässt, wurde den Patienten meist zusätzlich eine Probebiopsie angeboten, um eine histologische Bestätigung der Diagnose zu erhalten.

Die Einwilligung der Patienten in die Auswertung der Daten erfolgte im Rahmen des Behandlungsvertrages des UKSH.

3.5.2 Ethikvotum

Es wurden keine experimentellen Interventionen am Patienten durchgeführt.

Die folgenden Ethikanträge wurden von der Ethikkommission geprüft und genehmigt: „Bestimmung der Anzahl des Monosomie-3 Status zirkulierender

Melanomzellen und Nachweis von Biomarkern des uvealen Primärtumors“ sowie „Bestimmung der Anzahl des chromosomalen Status zirkulierender Melanomzellen bei Patienten mit Aderhautnävus“ (Aktenzeichen 10-200 und Aktenzeichen 13-219 der Ethikkommission Lübeck mit Datum vom 17. Dezember 2010 und 21. Januar 2014).

3.5.3 Statistische Auswertung

Zur Datenerhebung und für Teile der Auswertung wurde das Programm *Microsoft Office Excel* (Version 16.0) benutzt.

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit dem Programm *R* (Version 4.0.5 2021) sowie mit der Beratung und Hilfe eines Statistikers (Herrn Vasyl Druchkiv, Abteilung für Forschung & Entwicklung, Clínica Baviera, Valencia, Spanien).

Der Unterschied in nominalen Variablen zwischen den unabhängigen Gruppen wurde entweder mit dem Chi²-Test oder dem exakten Test nach Fisher geprüft, je nach Größe der Erwartungswerte in den Zellen einer Kreuztabelle. Bei Erwartungswerten von unter ‚5‘ wurde der ‚Exakte Test nach Fischer‘ verwendet, in den sonstigen Fällen der Chi²-Test.

Für die intervallskalierten Merkmale wurde entweder der t-Test für unabhängige Stichproben oder der nicht parametrische Mann-Whitney-Test benutzt. Die Auswahl wurde anhand der Verteilungscharakteristiken der Variablen gemacht. Wenn die Verteilung nicht normal war, wurde der Mann-Whitney-Test benutzt, sonst der t-Test.

Für die intervallskalierten Merkmale wurde der nicht parametrische Mann-Whitney Test oder der Kruskal-Wallis-Test benutzt.

Für das Klassifizierungsproblem wurden Sensitivität, Spezifität, Genauigkeit, positiv prädiktiver Wert (PPW) und negativ prädiktiver Wert (NPW) berechnet. Diese Tests wurden anhand des McNemar-Tests für verbundene Stichproben verglichen. Die Konfidenzintervalle für Sensitivität und Spezifität wurden mit dem Paket *DTCComPair* (Stock and Hielscher [2014]) für *R* nach der Standardmethodologie berechnet.

Es wurde ein Signifikanzniveau von $\leq 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Im Analysezeitraum von 2012 bis 2021 wurden insgesamt 140 Patienten, bei denen eine auffällige melanozytäre Läsion vorlag, auf ZMZ untersucht [Synonym für ZMZ-Blutentnahme = Flüssigbiopsie (englischer Sprachgebrauch: liquid biopsy)].

Dieses Kollektiv wurde in zwei Gruppen aufgeteilt, deren demographische und klinische Parameter in Tabelle 5 und Tabelle 6 aufgeführt sind.

4.1.1 Gruppierung

- **Gruppe A** setzt sich aus 45 Patienten zusammen (26 Frauen [57,8 %] und 19 Männer [42,2 %]), die sich zusätzlich zur Flüssigbiopsie auch einer Tumorbiopsie unterzogen haben. Bei diesen Patienten wurde mindestens einmalig ZMZ aus dem Blut entnommen.
- In **Gruppe B** befinden sich 95 Patienten (58 Frauen [61,1 %] und 37 Männer [38,9 %]), bei denen mindestens zwei Flüssigbiopsien, aber keine Tumorbiopsie durchgeführt wurde.

Das mediane Patientenalter lag in Gruppe A bei 70 Jahren (zwischen mindestens 33 und höchstens 89 Jahren), in Gruppe B bei 67 Jahren (zwischen 18 und 85 Jahren).

In Gruppe A war in 22 Fällen (48,9 %) das rechte Auge und in 23 Fällen (51,1 %) das linke Auge betroffen. In Gruppe B war in 43 Fällen (45,3 %) das rechte Auge und 52-mal (54,7 %) das linke Auge betroffen.

In Gruppe A wurde in 38 Fällen ein UM diagnostiziert (davon 34 AH-, drei Iris- und ein ZK-Melanom). In Gruppe B wurde in 66 Fällen ein UM diagnostiziert (davon 61 AH-, vier Iris- und ein ZK-Melanom).

Bei sieben Patienten in Gruppe A wurden die Läsionen als benigne (sechs als AH-Nävus und eine als Irisnävus) eingestuft. In Gruppe B waren es 27 Patienten mit einer benignen Läsion, von denen 24 als AH-Nävus und drei als Irisnävus

Ergebnisse

eingordnet wurden. In Gruppe B lagen in zwei Fällen zudem andere AH-Läsionen vor (eine Pigmentepithelhyperplasie und eine choroidale Kalzifikation). Diese Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgelistet:

Tabelle 5: Demographische und klinische Parameter der Gruppen A und B.

	Gruppe A n=45 (%)	Gruppe B n=95 (%)
Geschlecht		
• Weiblich	26 (57,8)	58 (61,1)
• Männlich	19 (42,2)	37 (38,9)
Betroffenes Auge		
• rechts	22 (48,9)	43 (45,3)
• links	23 (51,1)	52 (54,7)
Diagnose		
• AH-Melanom	34 (75,6)	61 (64,2)
• ZK-Melanom	1 (2,2)	1 (1,1)
• Irismelanom	3 (6,7)	4 (4,2)
• AH-Nävus	6 (13,3)	24 (25,3)
• Irisnävus	1 (2,2)	3 (3,2)
• Andere AH-Läsion	0 (0,0)	2 (2,1)
Alter zum Zeitpunkt der Biopsie/ der ersten Flüssigbiopsie (in Jahren)		
• Median [Q1/Q3]	70 [58,0 / 77,0]	67 [56,0 / 74,5]
• Minimum	33	18
• Maximum	89	85

In eckigen Klammern: Q1 = erstes Quartil (25 %) ; Q3 = drittes Quartil (75 %).

Außerdem ist zu erwähnen, dass in Gruppe A sechs Patienten (14,6 %) zusätzlich ein anderes Karzinom hatten, in Gruppe B waren es 10 Patienten (10,5 %). In Gruppe A lagen in drei Fällen Metastasen vor, in Gruppe B war es ein Fall.

Therapeutisch wurde in Gruppe A und B am häufigsten eine Radiotherapie durchgeführt (44,4 % vs. 33,7 %). Eine kombinierte Radiotherapie und Endoresektion haben fünf Patienten der Gruppe A und zwei der Gruppe B erhalten.

Ergebnisse

Die histologische Untersuchung nach Endoresektion in Gruppe B ergab in beiden Fällen ein AH-Melanom.

In Gruppe B wurde bei 35 Patienten (36,8 %) entschieden, abzuwarten und engmaschige Kontrollen durchzuführen, in Gruppe A wurde dies bei sieben Patienten (15,6 %) entschieden. Eine TTT haben in Gruppe A sechs und in Gruppe B 19 Patienten erhalten. E nukleiert wurde in Gruppe A in vier Fällen, in Gruppe B in nur einem Fall. In Gruppe B lehnten zudem sechs Patienten die empfohlene Therapie ab.

Im Laufe der Studie verstorben ist in Gruppe A ein Patient (2,2 %), in Gruppe B waren es vier Patienten (4,2 %). Diese Ergebnisse sind erneut in Tabelle 6 dargestellt:

Tabelle 6: Demographische und klinische Parameter der Gruppen A und B.

	Gruppe A n=45 (%)	Gruppe B n=95 (%)
anderes Karzinom		
• Nein	39 (86,7)	85 (89,5)
• Ja	6 (14,6)	10 (10,5)
Metastasen		
• nein	42 (93,3)	94 (98,8)
• ja	3 (6,7)	1 (1,1)
Therapie		
• Endoresektion	3 (6,7)	0 (0,0)
• Radiotherapie	20 (44,4)	32 (33,7)
• TTT	6 (13,3)	19 (20,0)
• E nukleation	4 (8,9)	1 (1,1)
• Radiotherapie und Endoresektion	5 (11,1)	2 (2,1)
• kontrolliertes Abwarten	7 (15,6)	35 (36,8)
• Patient lehnt Behandlung ab	0 (0,0)	6 (6,3)
Patient verstorben		
• nein	44 (97,8)	91 (95,8)
• ja	1 (2,2)	4 (4,2)

4.2 Tumormerkmale

In Tabelle 7 sind die Tumormerkmale beider Gruppen aufgeführt. Die Tumorgröße ‚B1‘ beschreibt das Resultat der Ausmessung der Tumoren in der longitudinalen Ebene und ‚B2‘ die entsprechenden Maße in der transversalen Ebene. Die Tumordicke wurde bei AH-Läsionen mittels Sonographie und bei Iris- oder ZK-Läsionen mittels UBM gemessen. Die Werte sind in Millimetern (mm) angegeben. Zusätzlich wird angegeben, in wie vielen Fällen der Durchmesser des Tumors bei über 5 mm lag und ob ein Größenwachstum oder Symptome (unter anderem eine Visusverschlechterung) vorlagen.

Ergebnisse

Tabelle 7: Merkmale der uvealn Tumoren der Gruppen A und B.

	Gruppe A n=45 (%)	Gruppe B n=95 (%)
Tumorgröße B1 (mm)		
• Min–Max	1,4–17,5	0,9–15,4
• Mittel [SA]	7,5 [3,4]	5,3 [2,5]
• Median [Q1/Q3]	7,4 [5,4 / 8,5]	5,1 (3,5 / 6,6)
Tumorgröße B2 (mm)		
• Min–Max	2,2–17,5	1,0–13,5
• Mittel [SA]	7,1 [3,1]	5,2 [2,5]
• Median [Q1/Q3]	6,8 [5,1 / 8,5]	5,1 [3,3 / 7,0]
Tumordicke (mm)		
• Min–Max	0,6–10,2	0,2–13,8
• Mittel [SA]	3,0 [2,7]	1,4 [1,8]
• Median [Q1/Q3]	1,9 [1,1 / 3,4]	1,0 [0,6 / 1,7]
Tumordurchmesser > 5 mm		
• Nein	7 (15,6)	37 (38,9)
• Ja	38 (84,4)	58 (61,1)
Größenwachstum		
• Nein	11 (24,4)	48 (50,5)
• Ja	34 (75,6)	47 (49,5)
Symptome		
• Nein	29 (64,4)	84 (88,4)
• Ja	16 (35,6)	11 (11,6)

In eckigen Klammern: SA = Standard-Abweichung ; Q1 = erstes Quartil (25 %) ; Q3 = drittes Quartil (75 %).

In Tabelle 8 sind die klinischen Tumormerkmale beider Gruppen aufgeführt.

Da Iris-/ZK-Läsionen andere Tumormerkmale aufweisen, sind diese gesondert beschrieben. Die Gruppen der Iris- und ZK-Läsionen sind mit n=5 in Gruppe A und n=8 in Gruppe B sehr klein, weshalb diese nachfolgend nicht tabellarisch oder graphisch dargestellt werden.

Die Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe A (n=5) wiesen in zwei Fällen (40,0 %) eine Pupillenverziehung auf. *Sentinel vessels* wurden in einem Fall (20,0 %) beschrieben. Bei keinem der Patienten zeigte sich eine sektorielle Katarakt.

Ergebnisse

Die Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe B (n=8) zeigten in fünf Fällen (62,5 %) eine Pupillenverziehung, *sentinel vessels* traten in drei Fällen (37,5 %) auf. Auch hier trat bei keinem der Patienten eine sektorielle Katarakt auf.

Tabelle 8: Tumormerkmale von Aderhautläsionen.

	Gruppe A n=40 (%)	Gruppe B n=87 (%)
Orange pigment		
• Nein	16 (40,0)	42 (48,3)
• Ja	24 (60,0)	45 (51,7)
Halo		
• Nein	39 (97,5)	83 (95,4)
• Ja	1 (2,5)	4 (4,6)
Drusen		
• Nein	21 (52,5)	52 (59,8)
• Ja	19 (47,5)	35 (40,2)
subretinale Flüssigkeit		
• Nein	14 (35,0)	54 (62,1)
• Ja	26 (65,0)	33 (37,9)

4.3 Ergebnis ZMZ und Biopsie

Tabelle 9 führt das Ergebnis der Flüssigbiopsie auf. In beiden Gruppen war bei einer großen Zahl an Patienten das Ergebnis positiv; in Gruppe A bei 41 von 45 Patienten, in Gruppe B bei 64 von 95 Patienten. Kein ZMZ-Nachweis gelang in Gruppe A in vier (8,9 %) und in Gruppe B in fünf Fällen (5,3 %). In Gruppe B gibt es zusätzlich die Ergebnismöglichkeit der ‚variierenden Positivität‘, welche angegeben wird, wenn das ZMZ-Ergebnis bei mehreren Abnahmen variierend positiv oder negativ ausgefallen ist.

Die Biopsie war in Gruppe A in 38 Fällen (84,4 %) positiv und in vier Fällen (8,9 %) negativ. In drei Fällen war in der Biopsie zu wenig Material für eine pathologische Begutachtung vorhanden.

Ergebnisse

Tabelle 9: Ergebnis ZMZ der Gruppen A und B, Ergebnis Biopsie von Gruppe A.

	Gruppe A n=45 (%)	Gruppe B n=95 (%)
Flüssigbiopsie		
• Positiv	41 (91,1)	64 (67,4)
• Negativ	4 (8,9)	5 (5,3)
• variierende Positivität		26 (27,4)
Monosomie 3		
• positiv	28 (62,2)	60 (63,2)
• negativ	17 (37,8)	35 (36,8)
Ergebnis Biopsie		
• positiv	38 (84,4)	
• negativ	4 (8,9)	
• zu wenig Material	3 (6,7)	

4.4 Vergleich klinisches Bild und ZMZ

Um die Fragestellung zu beantworten, ob der Nachweis von ZMZ mit dem klinischen Bild korreliert, werden in den folgenden Tabellen die Tumormerkmale mit dem ZMZ-Ergebnis verglichen.

In Tabelle 10 und Tabelle 12 werden die Tumormerkmale der AH-Läsionen der Gruppen A und B mit dem Ergebnis der Flüssigbiopsie verglichen und in den Abbildungen 5 bis 8 graphisch dargestellt.

Tabelle 11 und Tabelle 13 vergleichen die Tumormerkmale der Iris- und ZK-Läsionen mit dem ZMZ-Ergebnis.

Signifikante Unterschiede ($p\text{-Wert} \leq 0,05$) zeigten sich in Gruppe B bei Anwesenheit von Drusen und bei der Tumordicke bei Patienten mit variierender Positivität der Flüssigbiopsie. Davon hatten fünf der 16 Patienten mit Drusen (designiertes benignes Tumormerkmal) zuerst ein positives, dann ein negatives ZMZ-Ergebnis. Bei großer Tumordicke ($> 2,1$ mm) hatten vier Patienten zunächst

Ergebnisse

ein negatives, im Verlauf dann ein positives ZMZ-Ergebnis. Auffällig bei den Patienten mit negativem ZMZ-Ergebnis war, dass sich die Tumordicke mit im Median 0,5 mm geringer darstellte als bei den Patienten mit positivem ZMZ-Ergebnis (mediane Tumordicke: 0,9 mm) oder denen mit variierender Positivität (mediane Tumordicke: 1,5 mm).

Weiter konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Es ist zu beachten, dass die Gruppengröße der Patienten mit negativem ZMZ-Ergebnis (n=4 in Gruppe A und n=5 in Gruppe B) sehr klein ist, im Gegensatz zu der relativ großen Gruppe mit positivem ZMZ-Ergebnis (n=41 in Gruppe A und n=64 in Gruppe B) bzw. mit variierender Positivität (n=26 in Gruppe B).

Ergebnisse

Tabelle 10: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40).

	ZMZ positiv n=37 (%)	ZMZ negativ n=3 (%)	Total n=40 (%)	p-Wert
subretinale Flüssigkeit				0.539 b
• Nein	14 (37,8)	0 (0,0)	14 (35,0)	
• Ja	23 (62,2)	3 (100,0)	26 (65,0)	
Symptome				1.000 b
• Nein	22 (59,5)	2 (66,7)	24 (60,0)	
• Ja	15 (40,5)	1 (33,3)	16 (40,0)	
orange pigment				0.553 b
• Nein	14 (37,8)	2 (66,7)	16 (40,0)	
• Ja	23 (62,2)	1 (33,3)	24 (60,0)	
Halo				1.000 b
• Nein	36 (97,3)	3 (100,0)	39 (97,5)	
• Ja	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (2,5)	
Drusen				1.000 b
• Nein	19 (51,4)	2 (66,7)	21 (52,5)	
• Ja	18 (48,6)	1 (33,3)	19 (47,5)	
Größenwachstum				1.000 b
• Nein	9 (24,3)	1 (33,3)	10 (25,0)	
• Ja	28 (75,7)	2 (66,7)	30 (75,0)	
Tumordurchmesser > 5 mm				1.000 b
• Nein	3 (8,1)	0 (0,0)	3 (7,5)	
• Ja	34 (91,9)	3 (100,0)	37 (92,5)	
Tumorgröße B1				0.208 a
• Min–Max	3,1–17,5	6,8–13,8	3,1–17,5	
• Mittel [SA]	7,7 [3,0]	9,8 [3,6]	7,8 [3,0]	
• Median [Q1/Q3]	7,4 [5,5 / 8,3]	8,7 [7,8 / 11,2]	7,5 [5,6 / 8,6]	
Tumorgröße B2				0.281 a
• Min–Max	3,6–17,5	7,1–10,3	3,6–17,5	
• Mittel [SA]	7,4 [3,1]	8,3 [1,8]	7,4 [3,0]	
• Median [Q1/Q3]	6,8 [5,4 / 8,5]	7,4 [7,2 / 8,8]	7,0 [5,5 / 8,6]	
Tumorhöhe				0.143 a
• Min–Max	0,6–10,2	3,0–5,5	0,6–10,2	
• Mittel [SA]	3,0 [2,8]	3,8 [1,5]	3,1 [2,7]	
• Median [Q1/Q3]	1,9 [1,1 / 3,4]	3,0 [3,0 / 4,3]	2,1 [1,3 / 3,4]	

a = Mann-Whitney-Test, b = exakter Test nach Fisher.

In eckigen Klammern: SA = Standard-Abweichung ; Q1 = erstes Quartil (25 %) ; Q3 = drittes Quartil (75 %).

Ergebnisse

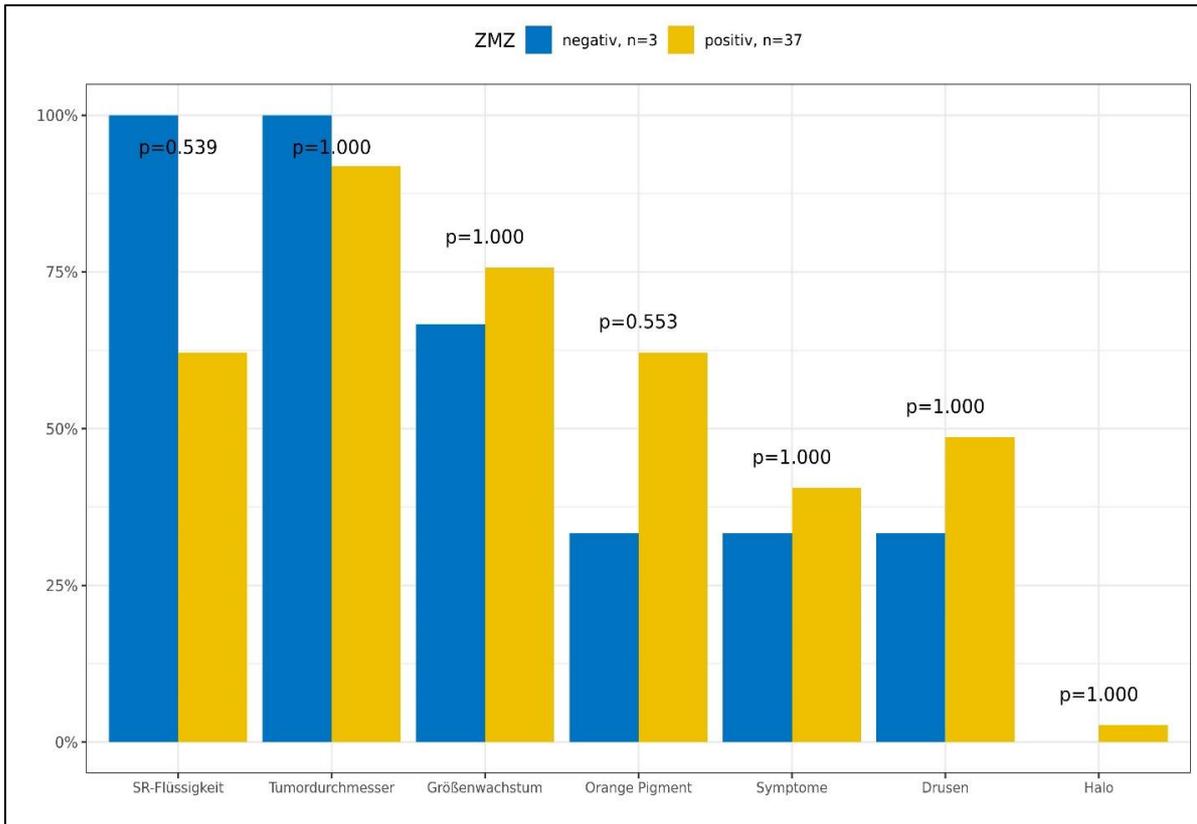


Abbildung 5: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40).

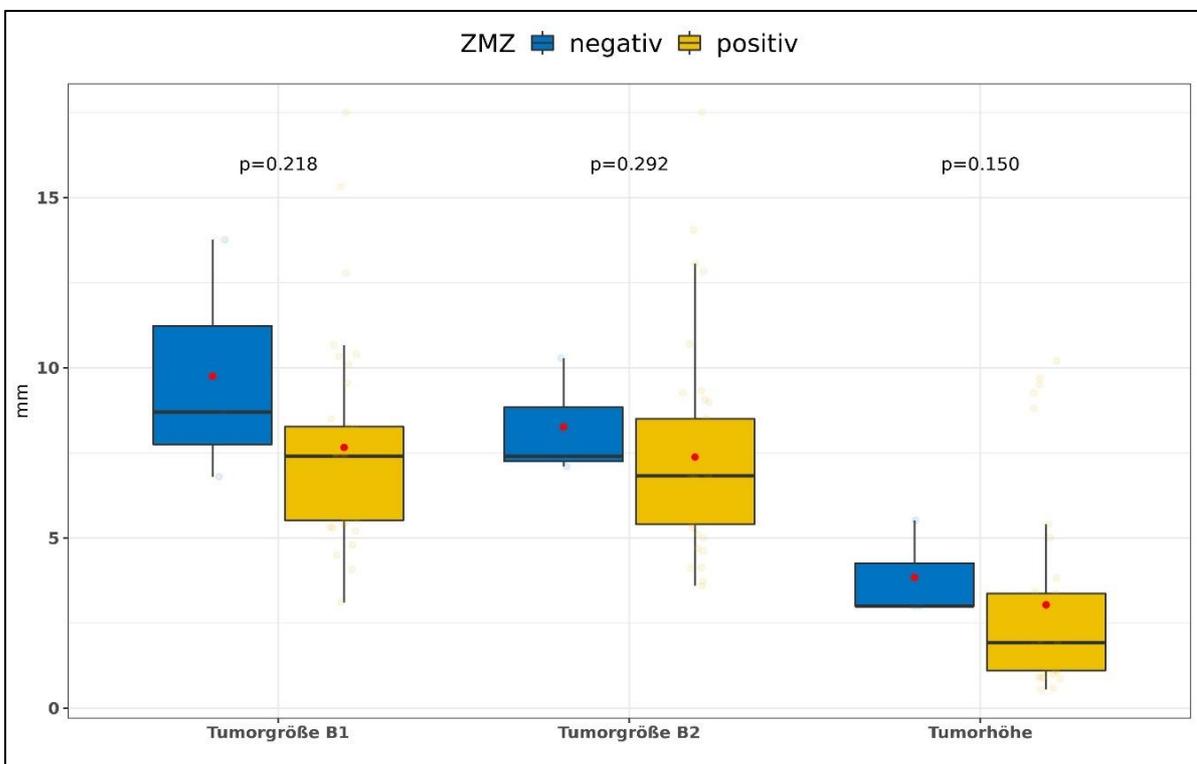


Abbildung 6: ZMZ-Ergebnis und Tumorgöße von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40).

Ergebnisse

Tabelle 11: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe A (n=5).

	ZMZ positiv n=4 (%)	ZMZ negativ n=1 (%)	Total n=5 (%)	p-Wert
Symptome				
• Nein	4 (100,0)	1 (100,0)	5 (100,0)	
• Ja	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Pupillenverziehung				1.000 b
• Nein	2 (50,0)	0 (0,0)	2 (40,0)	
• Ja	2 (50,0)	1 (100,0)	3 (60,0)	
sektorielle Katarakt				
• Nein	4 (100,0)	1 (100,0)	5 (100,0)	
• Ja	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Sentinel vessels				1.000 b
• Nein	3 (75,0)	1 (100,0)	4 (80,0)	
• Ja	1 (25,0)	0 (0,0)	1 (20,0)	
Größenwachstum				0.200 b
• Nein	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (20,0)	
• Ja	4 (100,0)	0 (0,0)	4 (80,0)	
Tumordurchmesser > 5 mm				1.000 b
• Nein	3 (75,0)	1 (100,0)	4 (80,0)	
• Ja	1 (25,0)	0 (0,0)	1 (20,0)	

b = exakter Test nach Fisher.

Die Iris-/ZK-Läsionen (n=5) der Gruppe A werden aufgrund der geringen Patientenzahl nicht graphisch dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 12: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87).

	ZMZ positiv n=59 (%)	ZMZ negativ n=4 (%)	Variierende Positivität n=24 (%)	Total n=87 (%)	p- Wert
subretinale Flüssigkeit					0.265 b
• Nein	37 (62,7)	4 (100,0)	13 (54,2)	54 (62,1)	
• Ja	22 (37,3)	0 (0,0)	11 (45,8)	33 (37,9)	
Symptome					0.674 b
• Nein	53 (89,8)	4 (100,0)	20 (83,3)	77 (88,5)	
• Ja	6 (10,2)	0 (0,0)	4 (16,7)	10 (11,5)	
orange pigment					0.479 b
• Nein	29 (49,2)	3 (75,0)	10 (41,7)	16 (40,0)	
• Ja	30 (50,8)	1 (25,0)	14 (58,3)	24 (60,0)	
Halo					0.159 b
• Nein	56 (94,9)	3 (75,0)	24(100,0)	83 (95,4)	
• Ja	3 (5,1)	1 (25,0)	0 (0,0)	4 (4,6)	
Drusen					0.006 b
• Nein	41 (69,5)	3 (75,0)	8 (33,3)	52 (59,8)	
• Ja	18 (30,5)	1 (25,0)	16 (66,7)	35 (40,2)	
Größenwachstum					0.182 b
• Nein	29 (49,2)	4 (100,0)	12 (50,0)	45 (51,7)	
• Ja	30 (50,8)	0 (0,0)	12 (50,0)	42 (48,3)	
Tumordurchmesser > 5 mm					0.245 b
• Nein	22 (37,3)	2 (50,0)	5 (20,8)	29 (33,3)	
• Ja	37 (62,7)	2 (50,0)	19 (79,2)	58 (66,7)	
Tumorgröße B1					0.306 a
• Min–Max	0,9–15,4	2,0–5,5	2,0–10,4	0,9–15,4	
• Mittel [SA]	5,5 (2,7)	3,9 [1,8]	5,7 [1,9]	5,5 (2,5)	
• Median [Q1/Q3]	5,3 [3,5 / 6,9]	4,0 (2,5 / 5,4)	5,4 (4,5 / 7,0)	5,3 [3,8 / 6,9]	
Tumorgröße B2					0.204 a
• Min–Max	1,2–13,5	2,0–5,6	2,0–10,0	1,2–13,5	
• Mittel [SA]	5,4 [2,6]	3,9 [1,9]	5,9 [2,0]	5,5 [2,5]	
• Median [Q1/Q3]	5,0 [3,4 / 7,0]	4,1 [2,5 / 5,5]	5,6 [4,9 / 7,5]	5,3 [3,7 / 7,1]	
Tumorhöhe					0.022 a
• Min–Max	0,2–7,2	0,2–0,6	0,3–13,8	0,2–13,8	
• Mittel [SA]	1,3 [1,2]	0,5 [0,2]	2,1 [2,9]	1,5 [1,8]	
• Median [Q1/Q3]	0,9 [0,6 / 1,7]	0,5 [0,4 / 0,6]	1,5 [0,7 / 1,8]	1,0 [0,6 / 1,7]	

a = Mann-Whitney-Test, b = exakter Test nach Fisher.

SA = Standardabweichung; Q1, Q3 = erstes Quartil (25 %) und drittes Quartil (75 %).

Ergebnisse

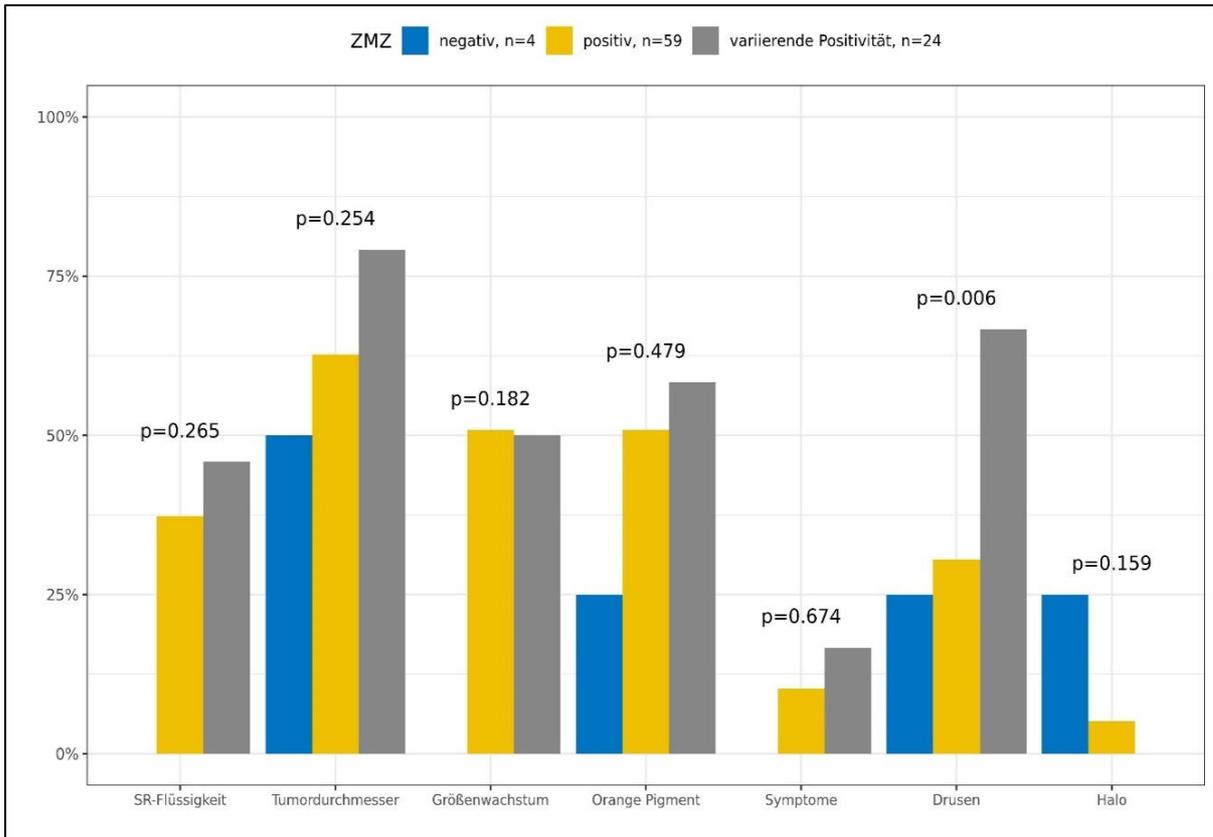


Abbildung 7: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87).

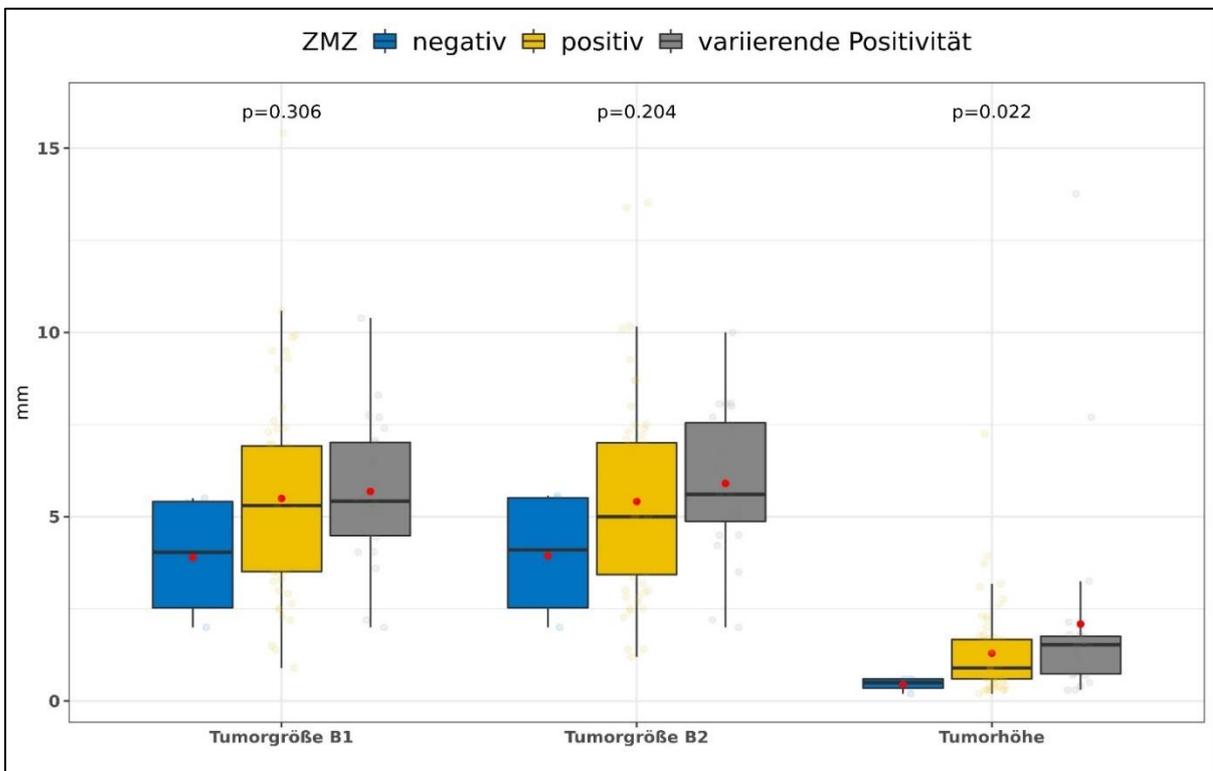


Abbildung 8: ZMZ-Ergebnis und Tumorgöße von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87).

Ergebnisse

Tabelle 13: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe B (n=5).

	ZMZ positiv n=5 (%)	ZMZ negativ n=1 (%)	variierende Positivität n=2 (%)	Total n=8 (%)	p-Wert
Symptome					0.375 b
• Nein	5 (100,0)	1 (100,0)	1 (50,0)	7 (87,5)	
• Ja	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	1 (12,5)	
Pupillenverziehung					0.643 b
• Nein	1 (20,0)	1 (100,0)	1 (50,0)	3 (37,5)	
• Ja	4 (80,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	5 (62,5)	
sektorielle Katarakt					
• Nein	5 (100,0)	1 (100,0)	2 (100,0)	8 (100,0)	
• Ja	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Sentinel vessels					1.000 b
• Nein	3 (60,0)	1 (100,0)	1 (50,0)	5 (62,5)	
• Ja	2 (40,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	3 (37,5)	
Größenwachstum					0.643 b
• Nein	2 (40,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	3 (37,5)	
• Ja	3 (60,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	5 (62,5)	

b = exakter Test nach Fisher.

Tabelle 14 vergleicht das ZMZ-Ergebnis mit klinischen Parametern (Alter, Seite, Geschlecht, Tumorlokalisation, Diagnose, Symptome und Größenwachstum) aller Patienten der Gruppe B (n=140). Ein signifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich der Diagnose mit dem ZMZ-Ergebnis: Bei positivem ZMZ-Ergebnis lag bei 77 Patienten ein AH-Melanom vor. Weitere signifikante Unterschiede ergaben sich nicht.

Ergebnisse

Tabelle 14: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild aller Tumoren der Gruppe B.

	ZMZ positiv n=105 (%)	ZMZ negativ n=9 (%)	variierende Positivität n=26 (%)	Total n=140 (%)	p-Wert
Alter					0.397 a
• Min–Max	18,0–89,0	33,0–78,0	31,0–81,0	18,0–89,0	
• Mittel [SA]	65,1 [13,3]	64,4 [14,2]	68,7 [11,8]	65,8 [13,0]	
• Median [Q1/Q3]	66,0 [56,0 / 75,0]	69,0 [59,0 / 73,0]	72,5 [66,2 / 77,8]	68,5 [57,0 / 76,0]	
Auge					0.278 b
• Rechts	52 (49,5)	2 (22,2)	11 (42,3)	65 (46,4)	
• Links	53 (50,5)	7 (77,8)	15 (57,7)	75 (53,6)	
Geschlecht					0.266 b
• Männlich	40 (38,1)	6 (66,7)	10 (38,5)	56 (40,0)	
• Weiblich	65 (61,9)	3 (33,3)	16 (61,5)	84 (60,0)	
Symptome					1.000 b
• Nein	84 (80,0)	8 (88,9)	21 (80,8)	113 (80,7)	
• Ja	21 (20,0)	1 (11,1)	5 (19,2)	27 (19,3)	
Größenwachstum					0.059 b
• Nein	40 (38,1)	7 (77,8)	12 (46,2)	59 (42,1)	
• Ja	65 (61,9)	2 (22,2)	14 (53,8)	81 (57,9)	
Lokalisation					0.247 b
• Aderhaut	96 (91,4)	7 (77,8)	24 (92,3)	127 (90,7)	
• Ziliarkörper	1 (1,0)	0 (0,0)	1 (3,8)	2 (1,4)	
• Iris	8 (7,6)	2 (22,2)	1 (3,8)	11 (7,9)	
Diagnose					0.002 b
• AH-Melanom	77 (73,3)	1 (11,1)	17 (65,4)	95 (67,9)	
• AH-Nävus	17 (16,2)	6 (66,7)	7 (26,9)	30 (21,4)	
• ZK-Melanom	1 (1,0)	0 (0,0)	1 (3,8)	2 (1,4)	
• Irismelanom	6 (5,7)	0 (0,0)	1 (3,8)	7 (5,0)	
• Irisnävus	2 (1,9)	2 (22,2)	0 (0,0)	4 (2,9)	
• Andere AH- Läsion	2 (1,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (1,4)	

a = Mann-Whitney-Test, b = exakter Test nach Fisher.

In eckigen Klammern: SA = Standardabweichung; Q1, Q3 = erstes Quartil (25 %) und drittes Quartil (75 %).

Abbildung 9 stellt den Vergleich von Alter, Geschlecht und Seite mit dem ZMZ-Ergebnis graphisch dar:

Ergebnisse

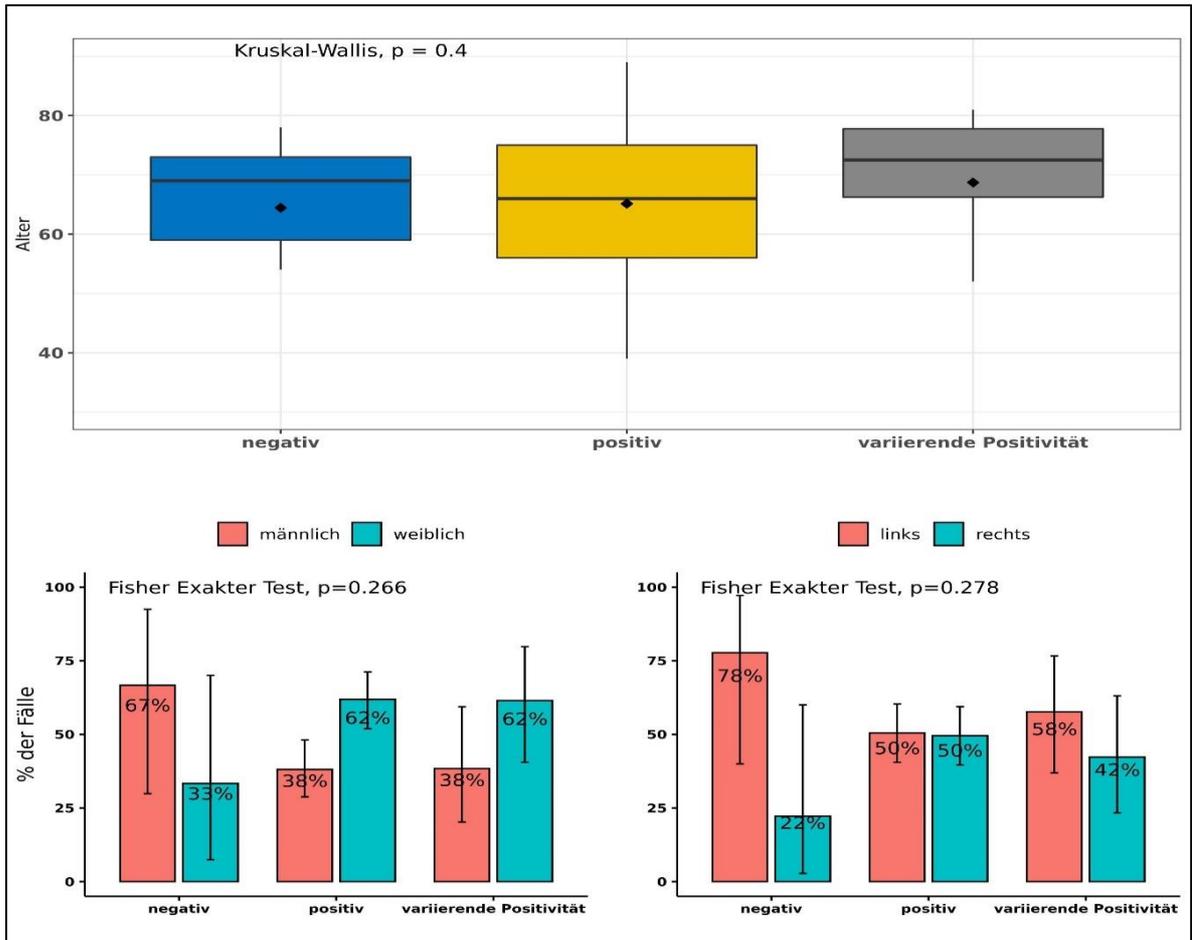


Abbildung 9: ZMZ-Ergebnis sowie Alter, Geschlecht und Seite der Gruppen A und B (n=140).

In Abbildung 10 werden die Tumormerkmale von allen uvealen Läsionen mit dem ZMZ-Ergebnis verglichen dargestellt. Hierbei zeigt sich für die drei Faktoren Tumordurchmesser, Größenwachstum und Symptome kein signifikanter Unterschied:

Ergebnisse

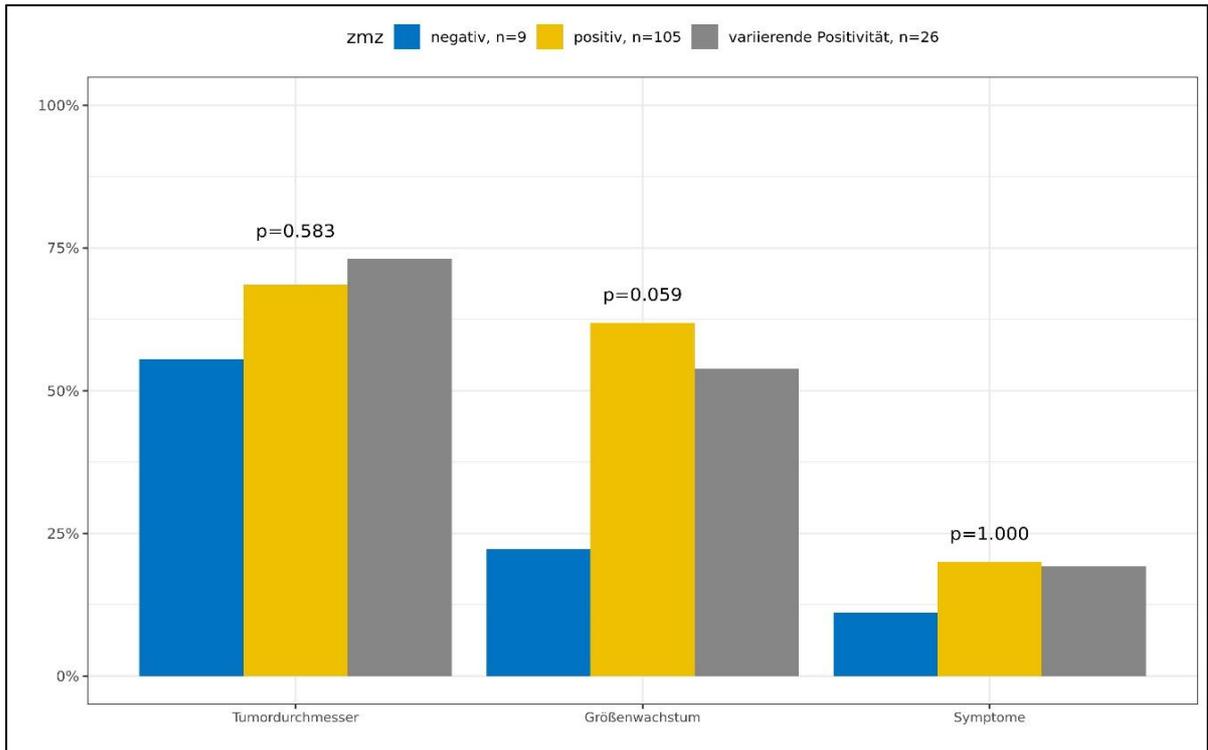


Abbildung 10: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild des gesamten Patientenkollektivs (n=140).

4.4.1 Patienten mit negativer Flüssigbiopsie

Da sich in den Gruppen A und B nur wenige Patienten mit negativer Flüssigbiopsie befanden (n=4 in Gruppe A und n=5 in Gruppe B) und damit die Aussagekraft eines negativen ZMZ-Ergebnisses eingeschränkt war, untersuchten wir weitere 24 Patienten mit negativer Flüssigbiopsie, nachfolgend Gruppe C genannt. Diese Patienten erhielten eine ein- bis zweimalige Flüssigbiopsie. Die uvealen Läsionen in dieser Gruppe wurden bis zum Studienende als benigne eingestuft.

Wir untersuchten diese Patienten auch, um auf die Fragestellung einzugehen, ob der Nachweis von ZMZ mit dem klinischen Bild korreliert.

In dieser Gruppe befanden sich 15 Frauen (62,5 %) und neun Männer (37,5 %). Das mediane Patientenalter betrug 72,5 Jahre (Minimum 41, Maximum 87 Jahre). In acht Fällen (33,3 %) war das rechte Auge und in 16 Fällen (66,7 %) das linke Auge betroffen. 22 Patienten (86,7 %) hatten eine AH- und zwei Patienten (13,3 %) eine Irisläsion.

Tabelle 15 listet die Tumormerkmale aller Patienten und Tabelle 16 die Merkmale der AH-Läsionen der Gruppe C auf.

Die beiden Irisläsionen wiesen eine Pupillenverziehung auf. Keine der Irisläsionen zeigte *sentinel vessels* oder sektorielle Katarakte.

Auffällig ist die geringe mediane Tumorrhöhe mit 0,5 mm. Ein Großteil der AH-Läsionen wies Drusen auf (73,1 %). 33,3 % der Läsionen wiesen einen Durchmesser von > 5 mm auf. Insgesamt waren die Läsionen bezüglich der TFSOM-DIM-Regel wenig auffällig. Keine der Läsionen zeigte ein Größenwachstum.

Die Patienten der Gruppe C wurden nicht in die Gesamtstatistik miteinbezogen.

Ergebnisse

Tabelle 15: Tumormerkmale der Gruppe C.

Gruppe C n=24	
Tumorgröße B1 (mm)	
• Min–Max	2,0–8,0
• Mittel [SA]	3,9 [1,7]
• Median [Q1/Q3]	3,4 [2,6 / 4,9]
Tumorgröße B2 (mm)	
• Min–Max	2,0–8,0
• Mittel [SA]	4,3 [1,8]
• Median [Q1/Q3]	3,8 [3,0 / 5,2]
Tumordicke (mm)	
• Min–Max	0,2–2,7
• Mittel [SA]	0,8 [0,6]
• Median [Q1/Q3]	0,5 [0,4 / 1,1]
(% von 24)	
Tumordurchmesser > 5 mm	
• Nein	16 (66,7)
• Ja	8 (33,3)
Größenwachstum	
• Nein	24 (100,0)
• Ja	0 (0,0)
Symptome	
• Nein	23 (95,8)
• Ja	1 (4,2)

In eckigen Klammern: SA = Standardabweichung; Q1, Q3 = erstes Quartil (25 %) und drittes Quartil (75 %).

Tabelle 16: Tumormerkmale der AH-Läsionen von Gruppe C.

AH-Läsionen der Gruppe C n=22 (%)	
orange pigment	
• Nein	21 (95,5)
• Ja	1 (4,5)
Halo	
• Nein	22 (100,0)
• Ja	0 (0,0)
Drusen	
• Nein	6 (27,3)
• Ja	16 (72,7)
subretinale Flüssigkeit	
• Nein	20 (90,9)
• Ja	2 (9,1)

4.5 Vergleich klinisches Bild und Biopsie

Um die Fragestellung zu beantworten, ob das Ergebnis der Probebiopsie mit dem klinischen Bild korreliert, wurden die Tumormerkmale mit dem Biopsieergebnis der Gruppe A verglichen, da nur diese eine Biopsie erhalten hatte.

Bei drei von 45 Patienten der Gruppe A war in der Biopsie zu wenig Material zu finden, um sie durch die Pathologie auswerten zu können. Diese drei Patienten haben wir im Folgenden von den Auswertungen ausgeschlossen. Somit ergibt sich eine Patientenanzahl von $n=42$.

Tabelle 17 vergleicht das klinische Bild nur der AH-Läsionen der Gruppe A ($n=37$) mit dem Biopsieergebnis. In Abbildung 11 und Abbildung 12 ist dies graphisch dargestellt.

Tabelle 18 vergleicht nur die Iris- und ZK-Läsionen mit dem Biopsieergebnis. Auch hier wurden diese aufgrund der geringen Patientenanzahl nicht graphisch dargestellt.

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ($p\text{-Wert} \leq 0,05$).

Ergebnisse

Tabelle 17: Biopsie und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).

	Biopsie positiv n=34 (%)	Biopsie negativ n=3 (%)	Total n=37 (%)	p-Wert
subretinale Flüssigkeit				0.540 b
• Nein	11 (32,4)	0 (0,0)	11 (29,7)	
• Ja	23 (67,6)	3 (100,0)	26 (70,3)	
Symptome				1.000 b
• Nein	19 (55,9)	2 (66,7)	21 (56,8)	
• Ja	15 (44,1)	1 (33,3)	16 (43,2)	
orange pigment				0.059 b
• Nein	12 (35,3)	3 (100,0)	15 (40,5)	
• Ja	22 (64,7)	0 (0,0)	22 (59,5)	
Halo				1.000 b
• Nein	33 (97,1)	3 (100,0)	36 (97,3)	
• Ja	1 (2,9)	0 (0,0)	1 (2,7)	
Drusen				1.000 b
• Nein	17 (50,0)	2 (66,7)	19 (51,4)	
• Ja	17 (50,0)	1 (33,3)	18 (48,6)	
Größenwachstum				0.086 b
• Nein	4 (12,9)	2 (66,7)	7 (18,9)	
• Ja	27 (87,1)	1 (33,3)	30 (81,1)	
Tumordurchmesser > 5 mm				1.000 b
• Nein	2 (5,9)	0 (0,0)	2 (5,6)	
• Ja	32 (94,1)	3 (100,0)	34 (94,4)	
Tumorgröße B1				0.802 a
• Min–Max	3,1–17,5	6,8–8,7	3,1–17,5	
• Mittel [SA]	8,0 [3,2]	7,7 [1,0]	8,0 [3,0]	
• Median [Q1/Q3]	7,5 [5,6 / 9,3]	7,5 [7,2 / 8,1]	7,5 [5,6/ 8,7]	
Tumorgröße B2				0.559 a
• Min–Max	3,6–17,5	6,8–8,7	3,6–17,5	
• Mittel [SA]	7,7 [3,1]	7,7 [1,0]	7,7 [3,0]	
• Median [Q1/Q3]	7,0 [5,6 / 9,1]	7,5 [7,2 / 8,1]	7,1 [5,6/ 9,0]	
Tumorhöhe				0.290 a
• Min–Max	0,6–10,2	3,0–3,4	0,6–10,2	
• Mittel [SA]	3,3 [2,9]	3,1 [0,2]	3,3 [2,8]	
• Median [Q1/Q3]	2,1 [1,5 / 3,7]	3,0 [3,0 / 3,2]	2,3 [1,5/ 3,4]	

a = Mann-Whitney-Test, b = exakter Test nach Fisher.

In eckigen Klammern: SA = Standardabweichung; Q1, Q3 = erstes Quartil (25 %) und drittes Quartil (75 %).

Ergebnisse

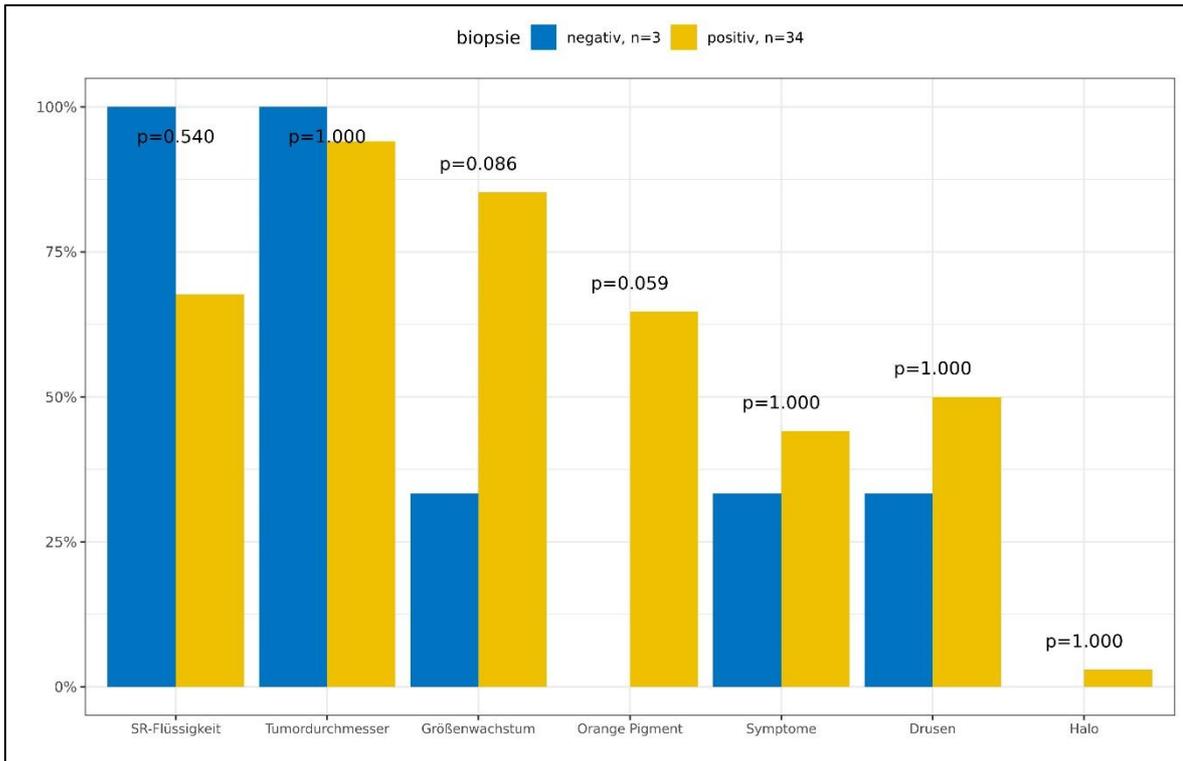


Abbildung 11: Biopsie und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).

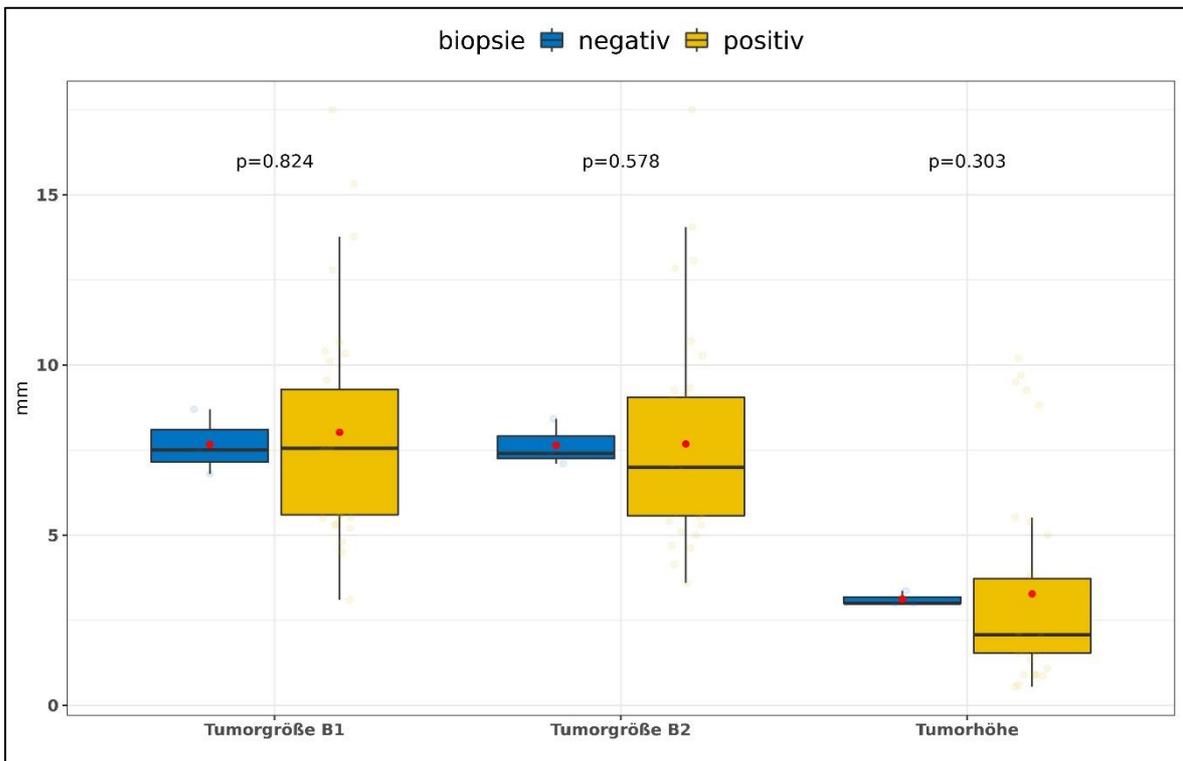


Abbildung 12: Biopsie und Tumorgöße von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).

Ergebnisse

Tabelle 18: Biopsie und klinisches Bild von Iris- und ZK-Läsionen der Gruppe A (n=5).

	positiv n=4 (%)	negativ n=1 (%)	Total n=5 (%)	p-Wert
Pupillenverziehung				1.000 b
• Nein	2 (50,0)	0 (0,0)	2 (40,0)	
• Ja	2 (50,0)	1 (100,0)	3 (60,0)	
sektorielle Katarakt				
• Nein	4 (100,0)	1 (100,0)	5 (100,0)	
• Ja	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
sentinel vessels				1.000 b
• Nein	3 (75,0)	1 (100,0)	4 (80,0)	
• Ja	1 (25,0)	0 (0,0)	1 (20,0)	

b = exakter Test nach Fisher.

Tabelle 19 vergleicht das Ergebnis der Biopsie mit den klinischen Merkmalen, die bei allen Patienten mit uvealen Läsionen vorlagen (Alter, Seite, Geschlecht, Symptome, Größenwachstum, Lokalisation im Auge und Diagnose) der Gruppe A. Abbildung 13 stellt dies graphisch dar.

Ein signifikanter Unterschied (p-Wert $\leq 0,05$) konnte beim Größenwachstum und bei der Diagnose AH-Melanom mit positiver Biopsie gezeigt werden. Die Diagnose AH-Melanom wird allerdings gestellt, sobald die Biopsie positiv ausfällt oder eindeutige klinische Merkmale vorliegen. Zudem fiel auf, dass in der Gruppe mit negativer Biopsie nur Männer waren.

Eine weitere Korrelation zwischen Probebiopsie und klinischem Patientenbild konnte nicht nachgewiesen werden.

Jedoch ist zu beachten, dass die Gruppe mit negativem Biopsieergebnis mit n=4 verglichen mit der mit positivem Ergebnis mit n=38 sehr klein ist, weshalb auch diese Gruppen nur eingeschränkt miteinander vergleichbar sind.

Ergebnisse

Tabelle 19: Biopsie und klinisches Bild uvealer Läsionen der Gruppe A.

	Biopsie positiv n=38 (%)	Biopsie negativ n=4 (%)	Total n=42 (%)	p-Wert
Alter				0.479 a
• Min–Max	40,0–89,0	33,0–78,0	33,0–89,0	
• Mittel [SA]	68,1 [11,9]	60,2 [19,6]	67,4 [12,7]	
• Median [Q1/Q3]	72,0 [58,2 / 77,0]	65,0 [53,2 / 72,0]	71,0 [58,2 / 77,0]	
Auge				1.000 b
• Rechts	18 (47,4)	2 (50,0)	20 (47,6)	
• Links	20 (52,6)	2 (50,0)	22 (52,4)	
Geschlecht				0.027 b
• Männlich	14 (36,8)	4 (100,0)	18 (42,9)	
• Weiblich	24 (63,2)	0 (0,0)	24 (57,1)	
Symptome				1.000 b
• Nein	23 (60,5)	3 (75,0)	26 (61,9)	
• Ja	15 (39,5)	1 (25,0)	16 (38,1)	
Größenwachstum				0.018 b
• Nein	5 (13,2)	3 (75,0)	8 (19,0)	
• Ja	33 (86,8)	1 (25,0)	34 (81,0)	
Lokalisation				0.410 b
• Aderhaut	34 (89,5)	3 (75,0)	37 (88,1)	
• Ziliarkörper	1 (2,6)	0 (0,0)	1 (2,4)	
• Iris	3 (7,9)	1 (25,0)	4 (9,5)	
Diagnose				<0.001 b
• AH-Melanom	32 (84,2)	0 (0,0)	32 (76,2)	
• AH-Nävus	2 (5,3)	3 (75,0)	5 (11,9)	
• ZK-Melanom	1 (2,6)	0 (0,0)	1 (2,4)	
• Irismelanom	3 (7,9)	0 (0,0)	3 (7,1)	
• Irisnävus	0 (0,0)	1 (25,0)	1 (2,4)	

a = Mann-Whitney-Test, b = exakter Test nach Fisher.

In eckigen Klammern: SA = Standardabweichung; Q1, Q3 = erstes Quartil (25 %) und drittes Quartil (75 %).

Ergebnisse

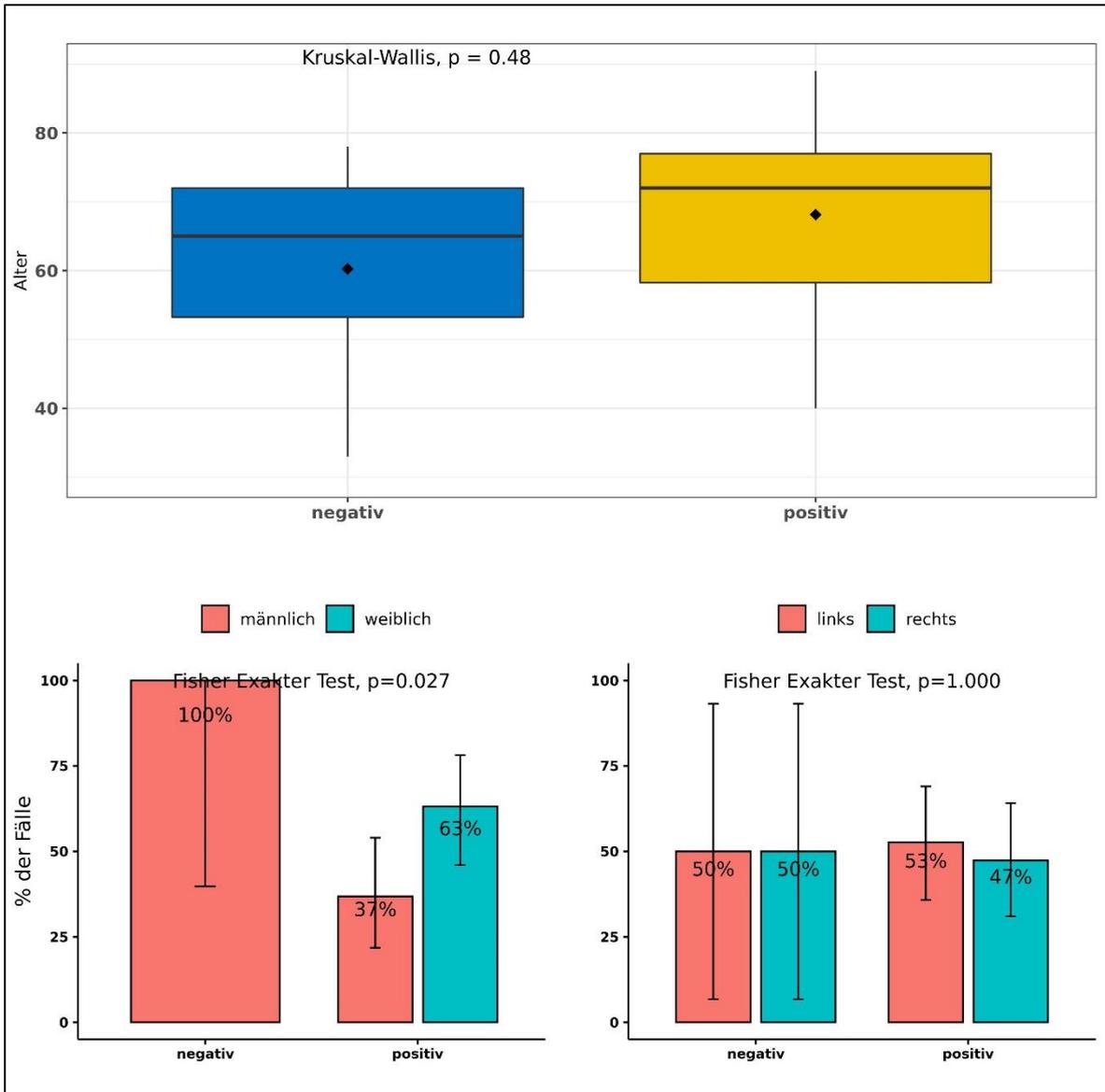


Abbildung 13: Vergleich Biopsie mit Alter, Geschlecht und Seite von Gruppe A (n=42).

4.6 Vergleich ZMZ- mit Biopsieergebnis

Um die Fragestellungen zu beantworten, ob die Untersuchung auf ZMZ die invasivere Probebiopsie bei der Diagnosesicherung eines UM ersetzen könnte und ob der Nachweis von ZMZ mit dem Ergebnis der Probebiopsie korreliert, wurde zum einen die Sensitivität und Spezifität der ZMZ-Untersuchung berechnet, zum anderen wurden PPW und NPW berechnet.

Die Sensitivität gibt die Wahrscheinlichkeit an, ob das ZMZ-Ergebnis positiv ist, wenn der Patient auch wirklich erkrankt ist, also hinsichtlich unserer Studie, ob die Biopsie bei tatsächlichem Vorliegen eines malignen Melanoms auch ein positives Ergebnis zeigt. Die Spezifität ist die Wahrscheinlichkeit, dass das ZMZ-Ergebnis negativ ist, wenn der Patient gesund ist, also die Biopsie in unserer Studie korrekt negativ ausgefallen ist.

Der PPW ist die Wahrscheinlichkeit, dass der Patient krank ist, wenn das ZMZ-Ergebnis positiv ist. Der NPW ist die Wahrscheinlichkeit, dass der Patient nicht krank ist, wenn das ZMZ-Ergebnis negativ ist.

Um zwei Marker miteinander vergleichen zu können, werden auch bei diesen Berechnungen nur die Patienten eingeschlossen, bei denen ein eindeutiges Biopsieergebnis vorlag (n=42).

Tabelle 20: Vergleich ZMZ- mit Biopsieergebnis (n=42).

	Biopsie negativ	Biopsie positiv
ZMZ negativ	3	1
ZMZ positiv	1	37

Ergebnisse

Tabelle 21: Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW.

		95%-Konfidenzintervall		
	Schätzung	Std. Fehler	Unter	Ober
Sensitivität	0,974	0,026	0,923	1
Spezifität	0,750	0,217	0,326	1
PPW	0,974	0,026	0,923	1
NPW	0,750	0,217	0,326	1

Es ergibt sich eine Sensitivität von 97,4 % und eine Spezifität von 75,0 % für das ZMZ-Ergebnis. Anhand des ZMZ-Ergebnisses kann man sich zu 97,4 % sicher sein, dass bei einem positiven Ergebnis auch wirklich ein UM vorliegt. Bei einem negativen ZMZ-Ergebnis kann zu 75 % ein UM ausgeschlossen werden.

5 Diskussion

Bei einem UM handelt es sich um einen intraokulären malignen Tumor, der im Falle einer Metastasierung innerhalb eines Jahres zum Tode führen kann.(113,142)

Mehrere Studien haben gezeigt, dass Mikrometastasen bereits einige Jahre vor der Diagnose eines UM auftreten.(42,86)

Um eine Tumoraussaat und spätere Metastasenentwicklung möglichst zu verhindern, ist deshalb eine frühe Therapie notwendig. Da diese mit funktionellen Einbußen des hochsensiblen Organs Auge einhergehen kann, muss die Diagnose eines UM gesichert sein. Da die klinische Unterscheidung eines AH-Nävus von einem kleinen Melanom nicht immer eindeutig bzw. sicher ist, kann eine Probebiopsie hilfreich sein. Diese ist jedoch invasiv, birgt Komplikationsrisiken, ist technisch schwierig und die Menge des gewonnenen Materials erlaubt ebenfalls nicht immer eine eindeutige Diagnose. Eine Flüssigbiopsie ist hingegen nicht oder nur minimal invasiv und wiederholbar.

Der Nachweis zirkulierender Tumorzellen oder deren Surrogate mittels Flüssigbiopsie wird bereits bei anderen Malignomen angewandt, um die Therapieeffekte zu überwachen und die Prognose besser abschätzen zu können.(18,58,68,90,95)

Der Einsatz der Flüssigbiopsie beim UM wird seit etlichen Jahren von unterschiedlichen Arbeitsgruppen weltweit untersucht. Hierbei ging es häufig nicht um die Verbesserung der Diagnostik, sondern auch um die Beurteilung der Prognose und der Krankheitsaktivität.(11)

Schuster et al. hatten mit ihrer Methode in 67 % der Patienten mit Lebermetastasen ein positives Flüssigbiopsieergebnis.(98) Die Sensitivität in dieser Studie erscheint angesichts des fortgeschrittenen Befundes und der bereits stattgehabten Metastasierung zu niedrig zu sein. Auch die Arbeit von Bande et al. konnte mit dem CELL-SEARCH-System (*CellTracks Circulating Melanoma Cell Kit*, Menarini Diagnostics, Florenz, Italien) nur bei 50 % der untersuchten ZMZ identifizieren.(10) Auch die Studie von Beasley et al. suggeriert mit einer Nachweisrate von 58 % bei schon metastasierten Patienten keine gute Sensitivität der Methode. Beasley et al.

folgern daraus, dass die Detektion von ZMZ bei Patienten mit UM zumindest tumorspezifische und prognostisch relevante Informationen ableitet.(14)

Andere Autoren zeigen, dass der Nachweis von ZMZ im Frühstadium eines UM auch mit einem erhöhten Risiko für eine Metastasierung einhergeht und somit als negativ-prognostischer Faktor gelten könnte.(6,77)

An der Universitätsaugenklinik Lübeck konnte die Nachweisrate von ZMZ durch den Einsatz des *Dual-immunomagnetic Enrichment Assay* von 20 % auf 90 % gesteigert werden.(130) Dieser Assay verwendet zwei spezifische Antikörper gegen Melanom-spezifische Proteine (NKI/C3 und NKI/beteb) und wurde entwickelt, um die Sensitivität zur Detektion von ZMZ im Blut zu erhöhen. Diese Methode wird seit über zehn Jahren eingesetzt und bisher untersuchten wir damit über 700 Blutproben und über 400 Patienten. Die isolierten Tumorzellen werden unter anderem mit der FISH-Methode (*Fluorescent In-situ Hybridisation*) zur Monosomie 3-Bestimmung weiter untersucht. Der Nachweis von ZMZ in über 90 % der Patienten mit primärem nicht metastasiertem UM – mit dem Wissen, dass nur ca. 50 % der Patienten später Metastasen entwickeln wird – lässt vermuten, dass eine alleinige Freisetzung nicht zwangsläufig zu klinisch manifesten Metastasen führt. Der Nachweis und die Nachweisrate von Monosomie 3 in ZMZ unterstreicht hingegen die Bedeutung dieser chromosomalen Aberration bei der späteren Metastasenentwicklung.(113,127,131)

Der Nachweis von ZMZ bei kleinen UM zeigt, dass die Tumorzell dissemination früh einsetzt.(130) Ziel dieser Arbeit war es, zu erörtern, ob der Nachweis von ZMZ im Blut von Patienten mit verdächtigen melanozytären Läsionen ein sinnvolles Instrument ist, Melanome frühzeitig von benignen Läsionen zu unterscheiden und damit das Risiko von klinisch manifesten Metastasen zu minimieren.

5.1 Diskussion und Bewertung der Ergebnisse

Demographische Parameter

Unsere Studie umschließt insgesamt 140 Patienten mit auffälligen melanozytären Läsionen, bei denen mindestens einmal eine Blutentnahme für die Flüssigbiopsie durchgeführt wurde. Verglichen mit der Datenlage anderer Studien zu diesem Thema ist die Fallzahl als ausreichend hoch einzuordnen.

Hinsichtlich der Geschlechterverteilung lag der Frauenanteil bei 60 % und der Anteil der Männer bei 40 %. Die Inzidenz des AH-Melanoms ist bei Männern und Frauen in der Literatur gleich beschrieben.(142) Der etwas höhere Frauenanteil in unserer Studie ist möglicherweise dadurch begründet, dass Frauen statistisch früher und häufiger ärztliche Untersuchungen wahrnehmen. Dieser Aspekt wurde aber nicht weiter untersucht.

Das mediane Alter der Patienten lag bei 68,5 Jahren. Empirisch betrachtet liegt der Altersgipfel eines UM zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr und das mediane Alter bei Erstdiagnose bei 55 Jahren.(25,137)

Klinische Parameter

Unterschiedliche klinische Parameter werden verwendet, um AH-Nävi von frühen UM zu unterscheiden. Wir haben diese mit dem Ergebnis der Flüssig- und Gewebebiopsie korreliert.

In Gruppe A war bei 60 % (24 Patienten) der AH-Läsionen **orange pigment** zu sehen; in Gruppe B war dies bei 51,7 % (45 Patienten) der Fall. Darunter befanden sich zwei Patienten, bei denen eine benigne AH-Läsion und kein entsprechendes Melanom diagnostiziert wurde. Dies unterstreicht die Annahme, dass das alleinige Vorhandensein von *orange pigment* kein sicherer Parameter für das Vorliegen eines malignen Befundes ist, jedoch sehr häufig damit korreliert.

Neben *orange pigment* gilt auch **subretinale Flüssigkeit** als hochgradig malignitätsverdächtiger Befund.

In dieser Studie wiesen 65 % (26 Patienten) der Läsionen der Gruppe A subretinale Flüssigkeit auf. Drei Läsionen wurden aber in der Gewebebiopsie als AH-Nävus eingestuft. In Gruppe B waren es 37,9 % (33 Patienten), wobei nur ein Patient als

AH-Nävus eingestuft wurde, bei den restlichen wurde ein AH-Melanom diagnostiziert.

Wie eingangs erwähnt, wurden die Tumormerkmale in zwei aktuelleren Studien von Shields et al. überarbeitet.(101,102) Hieraus ergab sich eine neue Risikoeinteilung, bei denen die Abwesenheit von Halo und Drusen nicht mehr als Malignitätsmerkmal gilt. Die in der ursprünglichen Fassung von 2009 angenommene Korrelation zwischen papillennaher Lage der Läsion und das Risiko einer malignen Transformation hat sich als Selektionsbias herausgestellt, weil zentrale Läsionen eher gefunden werden. Ein deutlicher Schwachpunkt dieser Studien besteht in dem Umstand, dass Läsionen, die nicht wachsen, als benigne Nävi eingestuft wurden. Dieser Umstand wird aber nicht z. B. durch eine Tumorbiopsie gestützt, was die Aussagefähigkeit insgesamt einschränkt.

In unserer Studie wiesen in Gruppe A 47,5 % (19 Patienten) mit AH-Läsionen **Drusen** auf, 17 Patienten davon erhielten dennoch die Diagnose AH-Melanom, zwei Patienten die Diagnose AH-Nävus. In Gruppe B wiesen 40,2 % (35 Patienten) der AH-Läsionen Drusen auf. Davon wurde bei 26 Patienten ein AH-Melanom und bei neun Patienten eine benigne AH-Läsion diagnostiziert.

Diese Häufigkeit des Vorhandenseins von Drusen bei nachweislich malignen Läsionen spricht auch laut unseren Ergebnissen dafür, Drusen nicht mehr als rein benignes Merkmal einzuordnen.

Ein **Halo** wurde in unserer Studie bei den AH-Läsionen nur selten diagnostiziert. In Gruppe A lag er nur bei einem Patienten mit einem AH-Nävus vor. In Gruppe B wurde ein Halo zwar bei vier Patienten detektiert, von denen einer ein AH-Melanom hatte – aufgrund der Tatsache, dass ein Halo nur selten zu sehen ist und nicht eindeutig einem malignen oder benignen Befund zuzuordnen ist, sprechen allerdings auch unsere Ergebnisse dafür, dieses Kriterium nicht weiter für die Einstufung einer AH-Läsion zu verwenden.

Die **Tumorhöhe** bei Patienten mit negativem ZMZ-Ergebnis war im Mittel um 0,5 mm geringer als bei Patienten mit positivem ZMZ-Ergebnis (mittlere Tumorhöhe: 0,9 mm). Auch in Gruppe C mit negativer Flüssigbiopsie lag die mediane Tumordicke bei nur 0,5 mm. Insofern kann hier geschlussfolgert werden,

dass der Nachweis von ZMZ im Blutkreislauf umso wahrscheinlicher ist, je dicker ein Tumor gemessen wird.

Dies korreliert mit bisherigen empirischen Ergebnissen, dass das Risiko für eine Metastasierung mit der Dicke des Tumors einhergeht.

In Gruppe A wiesen 84,4 % (38 Patienten) der Läsionen einen **Durchmesser** von > 5 mm auf, in Gruppe B waren es 61,1 % (58 Patienten). In Gruppe A hatten zwei dieser 38 Patienten die Diagnose AH-Nävus, die restlichen 36 Fälle (94,7 %) wurden als AH-Melanom bzw. ZK-Melanom (in einem Fall) eingestuft. In Gruppe B wurde bei acht der 58 Patienten ein AH-Nävus und in einem Fall eine PE-Hyperplasie diagnostiziert. Somit lag bei 84,5 % (49 Patienten) mit einer Tumorgöße von > 5 mm im Durchmesser ein AH-Melanom vor. Somit gehen auch unsere Ergebnisse konform mit der Annahme, dass der Tumordurchmesser als sehr wichtiger Marker für maligne Läsionen dienen kann.

Ebenso verhält es sich mit dem Einstufungskriterium des nachweisbaren **Größenwachstums**. In Gruppe A war bei 75,6 % (34 Patienten) ein Größenwachstum der Läsionen zu beobachten. Dabei handelte es sich bei 97,1 % um maligne Läsionen (AH-, ZK- oder Irismelanom).

49,5 % (47 Patienten) der Gruppe B zeigten ein Größenwachstum. 97,9 % dieser Läsionen wurden als maligne eingestuft (AH-, ZK- oder Irismelanom).

Diese Ergebnisse verdeutlichen erneut, dass allein das klinische Erscheinungsbild einer AH-Läsion keine eindeutige Zuordnung in eine sicher benigne oder sicher maligne Kategorie zulässt. Lediglich die initiale Größe bei Erstdiagnose und ein Größenwachstum im zeitlichen Verlauf machen eine AH-Läsion hochgradig verdächtig für einen malignen Befund.

Die Klassifizierung von UM mittels TNM nach AJCC, die die Ausdehnung und Prominenz des Tumors einbezieht, findet meist keine klinische Anwendung. Dies wurde kürzlich in einer größeren Studie von Cai et al. untermauert. In der Studie wurden 240 Patienten mit UM in zwei Risikogruppen nach GEP eingeteilt und dies mit dem TNM-Status verglichen.(24) Für beide Risikogruppen war die prognostische Genauigkeit mittels GEP der TNM-Klassifikation überlegen.

Flüssigbiopsieergebnis

In Gruppe A wurde bei 41 von 45 Patienten (91,1 %) ein positives ZMZ-Ergebnis detektiert. In Gruppe B waren es 64 Patienten (60,8 %), bei denen mehrfach das ZMZ-Ergebnis positiv war, 26 Patienten (24,7 %) fielen in die Gruppe der variierenden Positivität.

Diese hohe Anzahl an positiven ZMZ-Nachweisen lässt sich damit begründen, dass in unserer Studie eine ZMZ-Abnahme nur dann erfolgte, wenn ein UM klinisch nicht ausgeschlossen werden konnte, und nicht routinemäßig bei allen melanozytären Läsionen.

In Gruppe A lag bei den 41 Patienten mit positivem ZMZ-Ergebnis in 90,2 % der Fälle ein UM vor. In Gruppe B hatten von den 64 Patienten mit positivem ZMZ-Ergebnis 73,5 % ein UM, mit variierender Positivität waren es 73 %.

Ein negatives ZMZ-Ergebnis lag in Gruppe A bei vier Patienten vor. Von diesen vier Patienten hatte aber ein Patient dennoch ein AH-Melanom, bei drei Patienten wurde die Läsion als benigne eingestuft. In Gruppe B lag bei eindeutig negativem ZMZ-Ergebnis (n=5) in allen Fällen eine benigne Läsion vor.

In Gruppe B wurden die ZMZ-Ergebnisse in positiv, negativ und mit variierender Positivität eingeteilt. Variierende Positivität lag vor, wenn bei mehrfacher Blutentnahme das ZMZ-Ergebnis einmal (oder mehrmals) positiv und einmal (oder mehrmals) negativ ausfiel. Dieses Merkmal ist insofern interessant, als dass an ihm untersucht werden kann, inwiefern eventuell ein falsch negatives ZMZ-Ergebnis vorgelegen haben kann oder eine mögliche Transformation einer klinisch benignen in eine maligne Läsion vorlag. Die Läsionen von 13 Patienten mit von ‚negativ‘ zu ‚positiv‘ variierender Positivität zeigten im Verlauf alle ein Größenwachstum und/oder wiesen eine Tumorgöße von > 5 mm im Durchmesser auf.

In Abbildung 14 sind Befunde von Patient Nr. 30 aus Gruppe B dargestellt. Links ist das Fundusbild der peripher gelegenen AH-Läsion zu sehen. Rechts ist ein OCT-Schnitt durch dieselbe Läsion gezeigt. Er stellt den Tumor als flach und ohne subretinale Flüssigkeit dar. Bis auf den Durchmesser von > 5 mm stellte sich diese Läsion im Hinblick auf die einschlägigen Merkmale als unauffällig dar. Patient Nr. 30 erhielt eine viermalige Flüssigbiopsie. Das erste Ergebnis fiel negativ aus,

weitere drei Flüssigbiopsien in einem Zeitraum von elf Monaten fielen positiv aus. Aufgrund von detektiertem Größenwachstum und Verdacht auf *orange pigment* erhielt der Patient eine Radiotherapie.

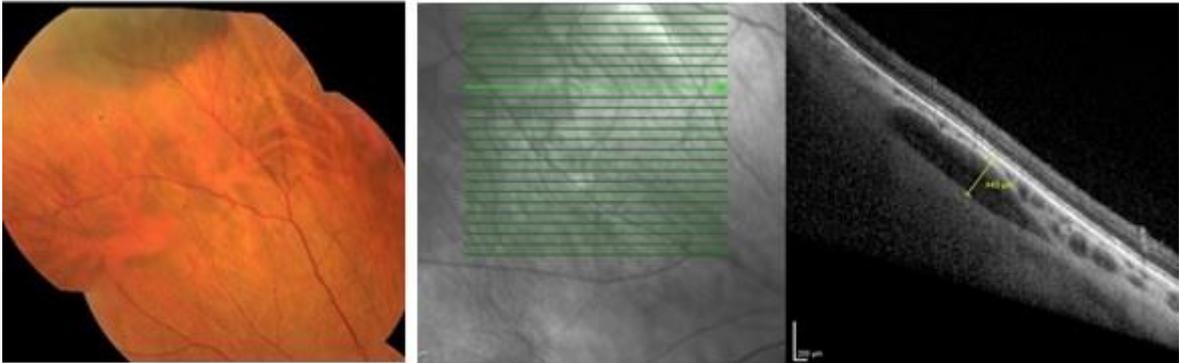


Abbildung 14: Fundusbild (links) und OCT (rechts) des Patienten Nr. 30 aus Gruppe B.

Allerdings gab es auch fünf Patienten mit von ‚positiv‘ zu ‚negativ‘ variierender Positivität, deren AH-Läsionen entweder nur eines oder gar kein Malignitätskriterium zeigten. Diese erhielten aufgrund eines stabilen Befundes keine Tumorthherapie.

Aus Gruppe A hatte Patient Nr. 42 eine negative Tumorbiopsie bei positiver Flüssigbiopsie. Interessanterweise war hier die Flüssigbiopsie mit nur einem Marker (NKI/beteb) positiv und es wurde nur eine disome Zelle ohne Monosomie 3 gefunden. Die Flüssigbiopsie war demnach nur schwach positiv. Dieser Patient erhielt bei stabilem Befund und wenig klinischen Verdachtsmomenten auf ein UM keine Therapie.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass in unserer Studie ein positives ZMZ-Ergebnis in Kombination mit einer klinisch verdächtigen Läsion meist die Diagnose UM bedeutete, während ein negatives ZMZ-Ergebnis in Kombination mit einer klinisch verdächtigen Läsion hingegen zu einem Abwarten und engmaschigen Kontrollieren führte. In diesem Fall wird bei weiterhin bestehenden klinischen Verdachtsmomenten auf Malignität eine erneute ZMZ-Abnahme angestrebt.

Wie bereits erwähnt, ist jedoch zu beachten, dass die Gruppengröße der Patienten mit negativem ZMZ-Ergebnis (n=4 in Gruppe A und n=5 in Gruppe B) sehr klein ist,

im Gegensatz zu der relativ großen Gruppe mit positivem ZMZ-Ergebnis (n=41 in Gruppe A und n=64 in Gruppe B) bzw. der mit variierender Positivität (n=26 in Gruppe B). Somit sind diese Gruppen nur begrenzt miteinander vergleichbar.

Aufgrund dieser wenigen Patienten mit negativem ZMZ-Ergebnis wurden weitere 24 Patienten untersucht, bei denen das ZMZ-Ergebnis negativ ausfiel und deren AH-Läsionen als benigne eingestuft wurden. In dieser Gruppe sollte untersucht werden, ob diese Läsionen auch im klinischen Bild als unauffällig einzustufen waren. Bezüglich der TFSOM-DIM-Regel war diese Gruppe nicht sehr auffällig. Ein Großteil der Läsionen (73,1 %) wies Drusen auf, 33,3 % hatten einen Tumordurchmesser von > 5 mm bei einer auffällig geringen medianen Tumordicke von 0,5 mm. Dies unterstützt die Annahme, dass es einen Zusammenhang zwischen Flüssigbiopsie und Tumordicke gibt.

Biopsieergebnis

In Gruppe A lag von 45 Patienten in 84,4 % der Fälle ein positives Biopsieergebnis, in 8,9 % ein negatives und in 6,7 % ein unklares Biopsieergebnis (bzw. zu wenig Material) vor.

In einem Fall (Patient Nr. 30) war das Biopsieergebnis initial negativ, obwohl der klinische Verdacht für ein UM bestand (siehe Abbildung 15). Bei diesem Patienten war zum Zeitpunkt der Biopsie das ZMZ-Ergebnis positiv. Aufgrund eines Größenwachstums der Läsion wurde eine zweite Biopsie durchgeführt, die bestätigte, dass es sich um ein AH-Melanom handelte.

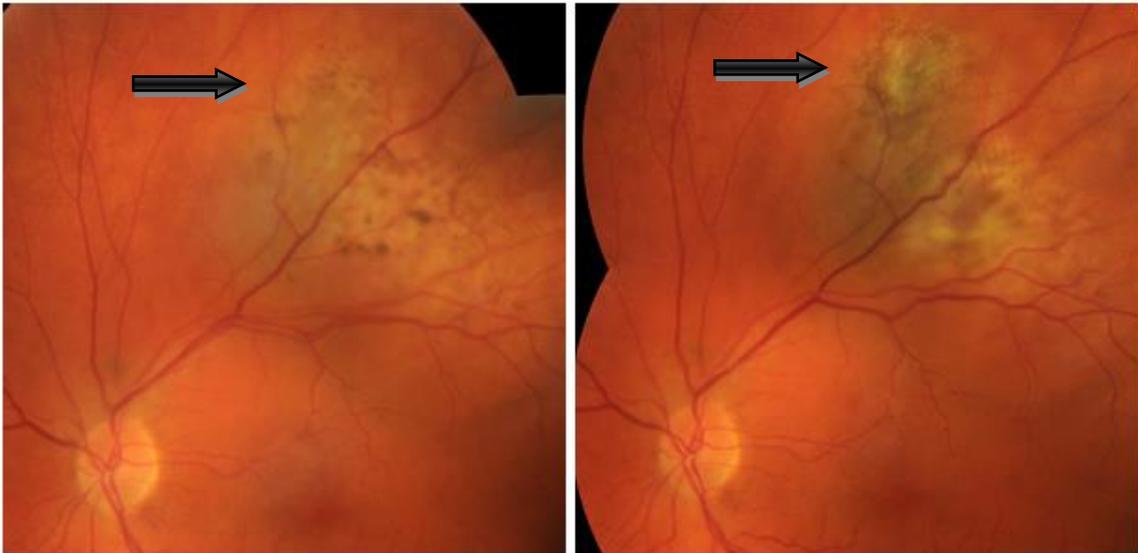


Abbildung 15: Funduskopisches Bild der AH-Läsion des Patienten Nr. 30 aus Gruppe A. Der Pfeil zeigt das Größenwachstum der Läsion an. Das rechte Bild wurde sechs Monate später aufgenommen.

In einem anderen Fall (Patient Nr. 32) in Gruppe A war das Biopsieergebnis negativ und die Flüssigbiopsie zum Zeitpunkt der Biopsie ebenfalls. Dieser Patient erhielt bei Größenwachstum der Läsion im Verlauf nach knapp einem Jahr eine weitere Flüssigbiopsie, welche positiv ausfiel. Es wurde daraufhin eine Radiotherapie eingeleitet. In diesem Fall ist die Tumorbiopsie als falsch negativ einzuordnen.

Ein negatives Biopsieergebnis ist daher kein Garant für eine sichere Diagnose. Gründe hierfür sind die inhomogene Tumorstruktur, die geringe Materialmenge und der fehlende gewebliche Zusammenhang.(9)

Statistisch einschränkend ist die kleine Zahl der Patienten mit negativer Biopsie (n=4). Diese Zahl ergibt sich auch daraus, dass bei einem negativen ZMZ-Ergebnis meist keine Probenbiopsie entnommen wurde.

Vergleich Flüssigbiopsie und Biopsie

In 37 Fällen ergab sich übereinstimmend ein positives Biopsie- und ZMZ-Ergebnis. In einem Fall war bei positiver Biopsie die Flüssigbiopsie negativ. In drei Fällen waren sowohl die Biopsie als auch das ZMZ-Ergebnis negativ. In einem Fall war bei negativer Biopsie die Flüssigbiopsie positiv. Daraus ergibt sich mit 97,4 % eine sehr hohe Sensitivität bei einer Spezifität von 75 %.

Es stellt sich angesichts einer so hohen Korrelation von positiv, wie negativ übereinstimmenden Biopsie- und Flüssigbiopsieergebnissen die Frage, inwieweit eine invasive Gewebeentnahme für die Diagnosesicherung noch notwendig ist. Zumindest können diese Ergebnisse als valider Ausgangspunkt für weitere kritische Analysen des diagnostischen Potenzials der Flüssigbiopsie dienen. Für noch verlässlichere Ergebnisse dieser Untersuchungsmethode wäre ein Kollektiv von mindestens 130 Patienten mit primärem, nicht metastasiertem UM notwendig, die sowohl eine Flüssigbiopsie als auch eine Probebiopsie erhalten (geschätzt mit der Power-Analyse).

Vermutlich ist auch die geringe Fallzahl anderer Studien zum Thema Flüssigbiopsie bei UM der Grund, warum sich bisher keine der Methoden im klinischen Alltag etabliert hat.

Die bisher größte Fallzahl hatte Eide et al. 2009 mit 328 Patienten. Bei allen Patienten wurde jedoch eine Knochenmarkaspiration durchgeführt und diese mittels immunomagnetischer Zellisolation untersucht. In 29,9 % der Fälle wurden Tumorzellen gefunden.(41)

Suesskind et al. untersuchten eine große Fallzahl (81 Patienten, von 2003 bis 2008) auf ZMZ vor und nach der Therapie. Es wurde untersucht, ob eine Therapie eine unmittelbare Tumorzellstreuung verursachen könnte. Ebenfalls mittels immunomagnetischer Zellisolation wurden hier bei 14 % der Fälle ZMZ vor einer Therapieeinleitung (E nukleation bzw. Endoresektion, Bestrahlung, Laserbehandlung) nachgewiesen – nach der Therapie war dies nur noch bei 10 % zu beobachten. Zudem war kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die ZMZ-Anzahl vor und nach der Behandlung und auch kein Zusammenhang zwischen der ZTZ-Positivität, den klinischen Parametern oder dem Auftreten von Metastasen zu erkennen.(121)

2014 konnten Mazzini et al. mittels filtrationsbasiertem Verfahren bei 31 Patienten mit UM in 55 % der Fälle ZTZ nachweisen, in zehn Fällen mit uvealen Nävi wurden keine ZTZ gefunden.(77)

Diskussion

In einer Studie von Beasley et al. wurde 2018 bei 26 verwertbaren Blutproben von Patienten mit primärem UM in 58 % der Fälle mindestens eine ZTZ mittels Immunfärbung nachgewiesen.(14)

Anand et al. konnten bei Patienten mit frühem oder metastasiertem UM in 21 von 39 Patienten (54 %) ZMZ im Blut nachweisen. In dieser Studie ergab die Anwesenheit von ZMZ ein höheres Risiko, an Metastasen zu erkranken, und ging mit einem schlechteren Outcome einher.(6)

Einen vielversprechenderen Ansatz liefern Daten einer australischen Studie aus dem Jahr 2019. Auch hier ging es darum, eine benigne AH-Läsion von einer malignen zu unterscheiden. Das Blut von 65 Patienten wurde auf sechs verschiedene zirkulierende mikro-RNAs (nicht kodierende RNA-Moleküle mit einer Länge von 19 bis 24 Nukleotiden) hin untersucht. Die Zusammensetzung der Expressionslevel der verschiedenen mikro-RNAs von Patienten mit einem vermeintlichen AH-Nävus unterschied sich dabei signifikant von der von Patienten mit (metastasiertem) AH-Melanom. Damit konnte eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von immerhin 93 % erreicht werden.(119)

Für andere Tumorentitäten findet die Methode des ZTZ-Nachweises im Blut schon längere Zeit klinische Anwendung.(50,54,139) Im Unterschied zum UM gibt es jedoch für diese Tumoren vergleichsweise sichere bzw. nicht zu einem möglichen Funktionsverlust des Organs führende bioptische Diagnosemethoden. In anderen onkologischen Fachbereichen wird die Flüssigbiopsie deshalb heutzutage vorwiegend zur Therapieüberwachung eingesetzt, der diagnostische Stellenwert ist hier weniger relevant.

2004 wurde bereits durch W. J. Allard et al. untersucht, in wie vielen Fällen mit dem CellSearch-System mehr als eine ZTZ pro 7,5 ml Blut bei unterschiedlichen Tumorentitäten zu finden ist. Dies gelang bei 57 % der Prostata-, 37 % der Mamma-, 37 % der Ovarial-, 30 % der Kolorektal- und 20 % der Lungenkarzinome.(3)

Cohen et al. haben 2018 die Ergebnisse einer Flüssigbiopsie (CancerSEEK) publiziert, in der neben zirkulierender Tumor-DNS auch proteinbasierte Biomarker im Plasma berücksichtigt wurden. Durch umfangreiche parallele DNS-

Sequenzierung sollte nicht nur nachgewiesen werden, dass ein Malignom vorliegt, sondern auch welches der acht mit diesem Test untersuchbaren Karzinome (Eierstock, Leber, Magen, Bauchspeicheldrüse, Speiseröhre, Dickdarm, Lunge oder Brust). Hierfür wurden die Blutproben von 1000 Krebskranken mit 850 gesunden Probanden verglichen. Der Test erreichte eine Spezifität von mehr als 99 %, die Sensitivität lag zwischen 69 % und 98 %.(27)

In einer britischen prospektiven Multicenterstudie wurde 2019 bei 144 Patientinnen mit Mammakarzinom im Frühstadium eine Flüssigbiopsie durchgeführt. Bei 101 der 144 Patientinnen (70,1 %) war die Flüssigbiopsie positiv. In der Nachbeobachtungszeit war eine positive Flüssigbiopsie stark mit einem Rezidiv assoziiert.(51)

5.2 Diskussion und Bewertung der Methode

Eine retrospektive Analyse, wie es unsere Studie ist, bietet während des Zeitraumes der Datenerhebung die Möglichkeit, Veränderungen hinsichtlich des therapeutischen und diagnostischen Vorgehens vorzunehmen, ohne dabei ein streng übergeordnetes Studienprotokoll befolgen zu müssen.

Ein weiterer Vorteil retrospektiver Untersuchungen ist es, dass neu auftretende Fragen durch Beurteilung der bereits umfassend vorhandenen Daten zügig bearbeitet werden können und somit für weitere Studien brauchbar sind. Diese Arbeit soll Ausgangspunkt dafür sein, durch prospektiv ausgerichtete Arbeiten ergänzt zu werden.

Ein Schwachpunkt retrospektiver Analysen, wie es sich zum Teil auch in unserer Studie zeigte, ist die unterschiedliche Qualität und Kontinuität der verfügbaren Daten. Dank einer guten und kontinuierlich gepflegten Dokumentation lagen in unserer Klinik jedoch nur wenige Datenlücken vor.

Einen Schwachpunkt dieser retrospektiven Arbeit stellt die noch zu geringe Fallzahl des Patientenguts dar. Im Vergleich mit anderen Studien zum Thema ist diese zwar relativ hoch – für statistisch verlässliche Aussagen aber dennoch zu gering. Besonders in der Gruppe A gab es nur eine geringe Anzahl von Patienten (n=4), bei denen die Biopsie negativ ausgefallen ist. Einen Schwachpunkt der Biopsie stellte die in einigen Fällen (n=3) zu geringe Materialgewinnung dar. Zudem sind

Diskussion

die Gruppen mit negativem ZMZ-Ergebnis (n=4 in Gruppe A und n=5 in Gruppe B) auch sehr klein. Um die Patienten valide miteinander vergleichen zu können und um eine sichere Diagnose zu stellen, hätten alle Patienten eine Tumorbiopsie erhalten müssen.

6 Zusammenfassung

Das uveale Melanom ist selten, führt aber im Falle einer Metastasierung innerhalb eines Jahres zum Tod. Daher gilt der Grundsatz, ein uveales Melanom so früh wie möglich zu erkennen und zu therapieren, um eine Metastasenbildung zu vermeiden. Die klinischen Parameter sind hilfreich, aber nicht ausreichend zuverlässig. Die Probebiopsie am Auge ist für das Organ sehr invasiv und die Diagnosesicherung durch die meist zu kleine Probenmenge nicht immer möglich.

Diese Arbeit untersucht die Möglichkeit, die Flüssigbiopsie als Instrument der Früherkennung einzusetzen. Hierfür wurden die Ergebnisse der Flüssigbiopsie und der Probebiopsie miteinander verglichen und mit dem klinischen Bild korreliert.

In dieser Studie wurden insgesamt 140 Patienten mit einer melanozytären Läsion mittels Flüssigbiopsie untersucht. In 45 Fällen erfolgte zusätzlich eine Gewebebiopsie. In 42 Fällen lag ein eindeutiges Ergebnis vor. In 38 von diesen 42 Fällen wurde mit der Gewebeprobe ein uveales Melanom diagnostiziert, in einem Fall konnten durch die Flüssigbiopsie keine zirkulierenden Melanomzellen nachgewiesen werden. Hieraus ergab sich eine Sensitivität von 97,4 %. In vier Fällen war die Gewebeprobe negativ, von denen wiederum in einem die Flüssigbiopsie ein positives Ergebnis erbrachte, weshalb eine Spezifität von 75,0 % ermittelt wurde. Gefunden wurde ein Zusammenhang zwischen Tumordicke und Flüssigbiopsie: Je dicker ein Tumor war, desto wahrscheinlicher war der Nachweis von zirkulierenden Melanomzellen im Blutkreislauf.

Aufgrund der hohen Sensitivität stellt die Flüssigbiopsie eine zusätzliche Hilfe für die Entdeckung eines uveal Melanoms dar. Die mäßige Spezifität schränkt jedoch die klinische Anwendung ein. Eine kritische Diskussion muss jedoch auch zur Probebiopsie geführt werden, da diese wegen der geringen Probenmenge falsch negativ ausfallen kann. Der klinische Nutzen der Flüssigbiopsie erwächst derzeit aus ihrem komplementären Einsatz zum klinischen Befund und ihrer kritischen Einschätzung im individuellen Kontext.

7 Abkürzungsverzeichnis

A

AH *Aderhaut*

AJCC *American Joint Committee on Cancer*

B

bzw. *beziehungsweise*

C

COMS *Collaborative Ocular Melanoma Study*

CT *Computer-Tomographie*

F

FAG *Fluorezeinangiographie*

FISH *fluorescent in-situ hybridisation*

G

GEP *gene expression profiling*

I

ICGA *Indocyaningrün-Angiographie*

M

MCSP *Melanom-assoziierte Chondroitin-Sulfat-Proteoglycan*

mm *Millimeter*

MRT *Magnetresonanztomographie*

N

NPW *negativ prädiktiver Wert*

O

OCT *optische Kohärenz-Tomographie*

Abkürzungsverzeichnis

OCT-A *OCT-Angiographie*

P

PPW *positiv prädiktiver Wert*

Q

Q1 / Q3 *erstes und drittes Quartil*

R

RNA *ribonucleic acid*

RT-PCR *reverse-transcriptase polymerase chain reaction*

S

SA *Standard-Abweichung*

T

TFSOM-DIM *to find small ocular melanoma doing imaging*

TFSOM-UHHD *to find small ocular melanoma using helpful hints daily*

TNM *Tumor Nodes Metastasis*

TTT *Transpupilläre Thermotheapie*

U

UBM *Ultraschallbiomikroskopie*

UKSH *Universitätsklinikum Schleswig-Holstein*

UM *uveales Melanom*

UV *Ultraviolett*

Z

z.B. *zum Beispiel*

ZK *Ziliarkörper*

ZMZ *zirkulierende Melanomzellen*

ZTZ *zirkulierende Tumorzellen*

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien der Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS).	5
Tabelle 2: TFSOM-UHHD-Regel.....	12
Tabelle 3: TFSOM-DIM-Regel.	13
Tabelle 4: Risikoquote für Wachstum in fünf Jahren.	13
Tabelle 5: Demographische und klinische Parameter der Gruppen A und B.	25
Tabelle 6: Demographische und klinische Parameter der Gruppen A und B.	26
Tabelle 7: Merkmale der uvealen Tumoren der Gruppen A und B.....	28
Tabelle 8: Tumormerkmale von Aderhautläsionen.	29
Tabelle 9: Ergebnis ZMZ der Gruppen A und B, Ergebnis Biopsie von Gruppe A.	30
Tabelle 10: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40)..	32
Tabelle 11: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe A (n=5).....	34
Tabelle 12: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87)..	35
Tabelle 13: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von Iris-/ZK-Läsionen der Gruppe B (n=5).....	37
Tabelle 14: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild aller Tumoren der Gruppe B.....	38
Tabelle 15: Tumormerkmale der Gruppe C.....	42
Tabelle 16: Tumormerkmale der AH-Läsionen von Gruppe C.....	42
Tabelle 17: Biopsie und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).....	44
Tabelle 18: Biopsie und klinisches Bild von Iris- und ZK-Läsionen der Gruppe A (n=5).....	46
Tabelle 19: Biopsie und klinisches Bild uvealer Läsionen der Gruppe A.	47
Tabelle 20: Vergleich ZMZ- mit Biopsieergebnis (n=42).....	49
Tabelle 21: Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW.	50

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Fundusbild einer großen, zentral gelegenen Aderhautläsion mit orange pigment.	6
Abbildung 2: Ultraschallbild eines großen Tumors mit Begleitamotio.	7
Abbildung 3: OCT-Bild eines Tumors mit subretinaler Flüssigkeit (roter Pfeil).	8
Abbildung 4: Schema metastatischer Kolonialisierung zirkulierender Tumorzellen. ⁷⁶	15
Abbildung 5: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40).	33
Abbildung 6: ZMZ-Ergebnis und Tumorgroße von AH-Läsionen der Gruppe A (n=40).	33
Abbildung 7: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87).	36
Abbildung 8: ZMZ-Ergebnis und Tumorgroße von AH-Läsionen der Gruppe B (n=87).	36
Abbildung 9: ZMZ-Ergebnis sowie Alter, Geschlecht und Seite der Gruppen A und B (n=140).	39
Abbildung 10: ZMZ-Ergebnis und klinisches Bild des gesamten Patientenkollektivs (n=140).	40
Abbildung 11: Biopsie und klinisches Bild von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).	45
Abbildung 12: Biopsie und Tumorgroße von AH-Läsionen der Gruppe A (n=37).	45
Abbildung 13: Vergleich Biopsie mit Alter, Geschlecht und Seite von Gruppe A (n=42).	48
Abbildung 14: Fundusbild (links) und OCT (rechts) des Patienten Nr. 30 aus Gruppe B.	57
Abbildung 15: Funduskopisches Bild der AH-Läsion des Patienten Nr. 30 aus Gruppe A. Der Pfeil zeigt das Größenwachstum der Läsion an. Das rechte Bild wurde sechs Monate später aufgenommen.	59

10 Literaturverzeichnis

1. Abi-Ayad N, Grange J-D, Salle M, Kodjikian L (2013)
Transretinal uveal melanoma biopsy with 25-gauge vitrectomy system.
Acta Ophthalmol 91, 279–281
2. Albert DM, Niffenegger AS, Willson JK (1992)
Treatment of metastatic uveal melanoma: review and recommendations.
Surv Ophthalmol 36, 429–438
3. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, Tibbe AGJ, Uhr JW, Terstappen LWMM (2004)
Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases.
Clin Cancer Res 10, 6897–6904
4. Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, Angelini G, Barisione G, Ferrini S, Pfeffer U (2017)
The biology of uveal melanoma.
Cancer Metastasis Rev 36, 109–140
5. Amin MB, Greene FL, Edge SB (Hrsg) (2017)
AJCC cancer staging manual.
AJCC American Joint Committee on Cancer; Springer, Chicago, IL Schweiz
6. Anand K, Roszik J, Gombos D, Upshaw J, Sarli V, Meas S, Lucci A, Hall C, Patel S (2019)
Pilot Study of Circulating Tumor Cells in Early-Stage and Metastatic Uveal Melanoma.
Cancers (Basel) 11
7. Andreoli MT, Mieler WF, Leiderman YI (2015)
Epidemiological trends in uveal melanoma.
Br J Ophthalmol 99, 1550–1553
8. Attard G, Bono JS de (2011)
Utilizing circulating tumor cells: challenges and pitfalls.
Curr Opin Genet Dev 21, 50–58
9. Bagger MM (2018)
Intraocular biopsy of uveal melanoma Risk assessment and identification of genetic prognostic markers.
Acta Ophthalmol 96 Suppl A112, 1–28
10. Bande MF, Santiago M, Muínelo-Romay L, Blanco MJ, Mera P, Capeans C, Pardo M, Piñeiro A (2015)
Detection of circulating melanoma cells in choroidal melanocytic lesions.
BMC Res Notes 8, 452
11. Bande Rodríguez MF, Fernández Marta B, Lago Baameiro N, Santiago-Varela M, Silva-Rodríguez P, Blanco-Teijeiro MJ, Pardo Pérez M, Piñeiro Ces A (2020)
Blood Biomarkers of Uveal Melanoma: Current Perspectives.
Clin Ophthalmol 14, 157–169
12. Barnes B (Hrsg) (November 2016)
Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016.
Robert Koch-Institut, Berlin

13. Bauer J, Kilic E, Vaarwater J, Bastian BC, Garbe C, Klein A de (2009)
Oncogenic GNAQ mutations are not correlated with disease-free survival in uveal melanoma.
Br J Cancer 101, 813–815
14. Beasley A, Isaacs T, Khattak MA, Freeman JB, Allcock R, Chen FK, Pereira MR, Yau K, Bentel J, Vermeulen T, Calapre L, Millward M, Ziman MR, Gray ES (2018)
Clinical Application of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA in Uveal Melanoma.
JCO Precis Oncol 2
15. Bechrakis NE, Anastassiou G, Bornfeld N, Foerster MH (2006)
Okuläre Melanome.
Onkologie 12, 213–221
16. Bechrakis NE, Foerster MH (2006)
Neoadjuvant proton beam radiotherapy combined with subsequent endoresection of choroidal melanomas.
Int Ophthalmol Clin 46, 95–107
17. Bechrakis NE, Foerster MH, Bornfeld N (2002)
Biopsy in indeterminate intraocular tumors.
Ophthalmology 109, 235–242
18. Berry JL, Xu L, Polski A, Jubran R, Kuhn P, Kim JW, Hicks J (2020)
Aqueous Humor Is Superior to Blood as a Liquid Biopsy for Retinoblastoma.
Ophthalmology 127, 552–554
19. Blanco PL, Lim LA, Miyamoto C, Burnier MN (2012)
Uveal melanoma dormancy: an acceptable clinical endpoint?
Melanoma Res 22, 334–340
20. Blum ES, Yang J, Komatsubara KM, Carvajal RD (2016)
Clinical Management of Uveal and Conjunctival Melanoma.
Oncology (Williston Park, N Y) 30, 29-32, 34-43, 48
21. Boldin I, Langmann G, Richtig E, Schwantzer G, Ardjomand N, Wegscheider B, El-Shabrawi Y (2005)
Five-year results of prognostic value of tyrosinase in peripheral blood of uveal melanoma patients.
Melanoma Res 15, 503–507
22. Boldt HC, Byrne SF, Gilson MM, Finger PT, Green RL, Straatsma BR, Simpson ER, Hawkins BS (2008)
Baseline echographic characteristics of tumors in eyes of patients enrolled in the Collaborative Ocular Melanoma Study: COMS report no. 29.
Ophthalmology 115, 1390-7, 1397.e1-2
23. Bono JS de, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, Doyle GV, Terstappen LWW, Pienta KJ, Raghavan D (2008)
Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer.
Clin Cancer Res 14, 6302–6309
24. Cai L, Paez-Escamilla M, Walter SD, Tarlan B, Decatur CL, Perez BM, Harbour JW (2018)
Gene Expression Profiling and PRAME Status Versus Tumor-Node-

- Metastasis Staging for Prognostication in Uveal Melanoma.
Am J Ophthalmol 195, 154–160
25. Chang AE, Karnell LH, Menck HR (1998)
The National Cancer Data Base report on cutaneous and noncutaneous melanoma: a summary of 84,836 cases from the past decade. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society.
Cancer 83, 1664–1678
26. Chien JL, Sioufi K, Surakiatchanukul T, Shields JA, Shields CL (2017)
Choroidal nevus: a review of prevalence, features, genetics, risks, and outcomes.
Curr Opin Ophthalmol 28, 228–237
27. Cohen JD, Li L, Wang Y, Thoburn C, Afsari B, Danilova L, Douville C, Javed AA, Wong F, Mattox A, Hruban RH, Wolfgang CL, Goggins MG, Dal Molin M, Wang T-L, Roden R, Klein AP, Ptak J, Dobbyn L, Schaefer J, Silliman N, Popoli M, Vogelstein JT, Browne JD, Schoen RE, Brand RE, Tie J, Gibbs P, Wong H-L, Mansfield AS, Jen J, Hanash SM, Falconi M, Allen PJ, Zhou S, Bettegowda C, Diaz LA, Tomasetti C, Kinzler KW, Vogelstein B, Lennon AM, Papadopoulos N (2018)
Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test.
Science 359, 926–930
28. Cohen SJ, Punt CJA, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, Picus J, Morse M, Mitchell E, Miller MC, Doyle GV, Tissing H, Terstappen LWMM, Meropol NJ (2008)
Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer.
J Clin Oncol 26, 3213–3221
29. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, Reuben JM, Doyle GV, Allard WJ, Terstappen LWMM, Hayes DF (2004)
Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer.
N Engl J Med 351, 781–791
30. Damato B (2006)
Treatment of primary intraocular melanoma.
Expert Rev Anticancer Ther 6, 493–506
31. Damato B (2010)
Does ocular treatment of uveal melanoma influence survival?
Br J Cancer 103, 285–290
32. Damato B (2012)
Progress in the management of patients with uveal melanoma. The 2012 Ashton Lecture.
Eye 26, 1157–1172
33. Damato B (2018)
Ocular treatment of choroidal melanoma in relation to the prevention of metastatic death - A personal view.
Prog Retin Eye Res 66, 187–199

34. Damato B, Duke C, Coupland SE, Hiscott P, Smith PA, Campbell I, Douglas A, Howard P (2007)
Cytogenetics of uveal melanoma: a 7-year clinical experience.
Ophthalmology 114, 1925–1931
35. Damato B, Groenewald C, McGalliard J, Wong D (1998)
Endoresection of choroidal melanoma.
Br J Ophthalmol 82, 213–218
36. Damato EM, Damato BE (2012)
Detection and time to treatment of uveal melanoma in the United Kingdom: an evaluation of 2,384 patients.
Ophthalmology 119, 1582–1589
37. Decatur CL, Ong E, Garg N, Anbunathan H, Bowcock AM, Field MG, Harbour JW (2016)
Driver Mutations in Uveal Melanoma: Associations With Gene Expression Profile and Patient Outcomes.
JAMA Ophthalmol 134, 728–733
38. Diener-West M, Earle JD, Fine SL, Hawkins BS, Moy CS, Reynolds SM, Schachat AP, Straatsma BR (2001)
The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma, III: initial mortality findings. COMS Report No. 18.
Arch Ophthalmol 119, 969–982
39. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliaro DJ, Caldwell R, Cumming K, Earle JD, Green DL, Hawkins BS, Hayman J, Jaiyesimi I, Kirkwood JM, Koh W-J, Robertson DM, Shaw JM, Thoma J (2004)
Screening for metastasis from choroidal melanoma: the Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report 23.
J Clin Oncol 22, 2438–2444
40. Doherty RE, Alfawaz M, Francis J, Lijka-Jones B, Sisley K (2018)
Noncutaneous Melanoma, Brisbane (AU)
41. Eide N, Faye RS, Høifødt HK, Øvergaard R, Jepsen P, Kvalheim G, Fodstad Ø (2009)
Immunomagnetic detection of micrometastatic cells in bone marrow in uveal melanoma patients.
Acta Ophthalmol 87, 830–836
42. Eskelin S, Pyrhönen S, Summanen P, Hahka-Kemppinen M, Kivelä T (2000)
Tumor doubling times in metastatic malignant melanoma of the uvea: tumor progression before and after treatment.
Ophthalmology 107, 1443–1449
43. Eskelin S, Pyrhönen S, Summanen P, Prause JU, Kivelä T (1999)
Screening for metastatic malignant melanoma of the uvea revisited.
Cancer 85, 1151–1159
44. Ewens KG, Kanetsky PA, Richards-Yutz J, Al-Dahmash S, Luca MC de, Bianciotto CG, Shields CL, Ganguly A (2013)
Genomic profile of 320 uveal melanoma cases: chromosome 8p-loss and metastatic outcome.
Invest Ophthalmol Vis Sci 54, 5721–5729
45. Filloy A, Caminal JM, Arias L, Jordán S, Català J (2015)
Swept source optical coherence tomography imaging of a series of choroidal

- tumours.
Can J Ophthalmol 50, 242–248
46. Finger PT, McCormick SA, Davidian M, Walsh JB (1996)
Adenocarcinoma of the retinal pigment epithelium: a diagnostic and therapeutic challenge.
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 234 Suppl 1, S22-7
47. Foss AJ, Guille MJ, Occleston NL, Hykin PG, Hungerford JL, Lightman S (1995)
The detection of melanoma cells in peripheral blood by reverse transcription-polymerase chain reaction.
Br J Cancer 72, 155–159
48. Foulds WS, Damato BE (1986)
Alternatives to enucleation in the management of choroidal melanoma.
Aust N Z J Ophthalmol 14, 19–27
49. Francis JH, Pang CE, Abramson DH, Milman T, Folberg R, Mrejen S, Freund KB (2015)
Swept-source optical coherence tomography features of choroidal nevi.
Am J Ophthalmol 159, 169-76.e1
50. Franklin WA, Shpall EJ, Archer P, Johnston CS, Garza-Williams S, Hami L, Bitter MA, Bast RC, Jones RB (1996)
Immunocytochemical detection of breast cancer cells in marrow and peripheral blood of patients undergoing high dose chemotherapy with autologous stem cell support.
Breast Cancer Res Treat 41, 1–13
51. Garcia-Murillas I, Chopra N, Comino-Méndez I, Beaney M, Tovey H, Cutts RJ, Swift C, Kriplani D, Afentakis M, Hrebien S, Walsh-Crestani G, Barry P, Johnston SRD, Ring A, Bliss J, Russell S, Evans A, Skene A, Wheatley D, Dowsett M, Smith IE, Turner NC (2019)
Assessment of Molecular Relapse Detection in Early-Stage Breast Cancer.
JAMA Oncol 5, 1473–1478
52. Ghassemi F, Mirshahi R, Fadakar K, Sabour S (2018)
Optical coherence tomography angiography in choroidal melanoma and nevus.
Clin Ophthalmol 12, 207–214
53. Greenstein MB, Myers CE, Meuer SM, Klein BEK, Cotch MF, Wong TY, Klein R (2011)
Prevalence and characteristics of choroidal nevi: the multi-ethnic study of atherosclerosis.
Ophthalmology 118, 2468–2473
54. Grisanti S, Antonelli A, Buglione M, Almici C, Foroni C, Sodano M, Triggiani L, Greco D, Palumbo C, Marini M, Magrini SM, Berruti A, Simeone C (2016)
Analysis of Circulating Tumor Cells in Prostate Cancer Patients at PSA Recurrence and Review of the Literature.
Anticancer Res 36, 2975–2981
55. Grisanti S, Ranjbar M, Tura A, Heindl LM, Kakkassery V (2020)
Uveales Melanom : Früherkennung als Schlüssel einer erfolgreichen personalisierten Medizin.
Ophthalmologie 117, 508–520

56. Hale PN, Allen RA, Straatsma BR (1965)
Benign melanomas (nevi) of the choroid and ciliary body.
Arch Ophthalmol 74, 532–538
57. (1998)
Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study. COMS report no. 6.
Am J Ophthalmol 125, 745–766
58. Hofman P (2017)
Liquid biopsy for early detection of lung cancer.
Curr Opin Oncol 29, 73–78
59. Horodeński J (1969)
Badania nad obecnością wolnych komórek czerniaka złośliwego jagodówki we krwi obwodowej.
Klin Oczna 39, 407–412
60. Jensen OA, Prause JU, Scherfig E (1997)
Transvitreal retino-choroidal biopsy of suspected malignant lesions of the choroid. Follow-up of cases over 7 years.
Acta Ophthalmol Scand 75, 409–411
61. Jonas JB, You QS, Xu L, Wang YX (2008)
Choroidal nevi in adult chinese.
Ophthalmology 115, 1102-1102.e1
62. Jovanovic P, Mihajlovic M, Djordjevic-Jocic J, Vlajkovic S, Cekic S, Stefanovic V (2013)
Ocular melanoma: an overview of the current status.
Int J Clin Exp Pathol 6, 1230–1244
63. Kaliki S, Shields CL (2017)
Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer.
Eye 31, 241–257
64. Kivelä T, Eskelin S, Kujala E (2006)
Metastatic uveal melanoma.
Int Ophthalmol Clin 46, 133–149
65. Konstantinidis L, Damato B (2017)
Intraocular Metastases--A Review.
Asia Pac J Ophthalmol (Phila) 6, 208–214
66. Krantz BA, Dave N, Komatsubara KM, Marr BP, Carvajal RD (2017)
Uveal melanoma: epidemiology, etiology, and treatment of primary disease.
Clin Ophthalmol 11, 279–289
67. Küsters-Vandeveldde HVN, Küsters B, van Engen-van Grunsven ACH, Groenen PJTA, Wesseling P, Blokx WAM (2015)
Primary melanocytic tumors of the central nervous system: a review with focus on molecular aspects.
Brain Pathol 25, 209–226
68. León-Mateos L, Vieito M, Anido U, López López R, Muínelo Romay L (2016)
Clinical Application of Circulating Tumour Cells in Prostate Cancer: From Bench to Bedside and Back.
Int J Mol Sci 17

69. Logan P, Bernabeu M, Ferreira A, Burnier MN (2015)
Evidence for the Role of Blue Light in the Development of Uveal Melanoma.
J Ophthalmol 2015, 386986
70. Lommatzsch P (1974)
Treatment of choroidal melanomas with ¹⁰⁶Ru/¹⁰⁶Rh beta-ray applicators.
Surv Ophthalmol 19, 85–100
71. Mader S, Pantel K (2017)
Liquid Biopsy: Current Status and Future Perspectives.
Oncol Res Treat 40, 404–408
72. Mahendraraj K, Lau CSM, Lee I, Chamberlain RS (2016)
Trends in incidence, survival, and management of uveal melanoma: a population-based study of 7,516 patients from the Surveillance, Epidemiology, and End Results database (1973–2012).
Clin Ophthalmol 10, 2113–2119
73. Mariani P, Servois V, Piperno-Neumann S (2012)
Therapeutic options in metastatic uveal melanoma.
Dev Ophthalmol 49, 166–181
74. Martin M, Maßhöfer L, Temming P, Rahmann S, Metz C, Bornfeld N, van de Nes J, Klein-Hitpass L, Hinnebusch AG, Horsthemke B, Lohmann DR, Zeschnigk M (2013)
Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3.
Nat Genet 45, 933–936
75. Mashayekhi A, Shields CL, Rishi P, Atalay HT, Pellegrini M, McLaughlin JP, Patrick KA, Morton SJ, Remmer MH, Parendo A, Schlitt MA, Shields JA (2015)
Primary transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma in 391 cases: importance of risk factors in tumor control.
Ophthalmology 122, 600–609
76. Massagué J, Obenauf AC (2016)
Metastatic colonization by circulating tumour cells.
Nature 529, 298–306
77. Mazzini C, Pinzani P, Salvianti F, Scatena C, Paglierani M, Ucci F, Pazzagli M, Massi D (2014)
Circulating tumor cells detection and counting in uveal melanomas by a filtration-based method.
Cancers (Basel) 6, 323–332
78. McLaughlin CC, Wu X-C, Jemal A, Martin HJ, Roche LM, Chen VW (2005)
Incidence of noncutaneous melanomas in the U.S.
Cancer 103, 1000–1007
79. Mellen PL, Morton SJ, Shields CL (2013)
American joint committee on cancer staging of uveal melanoma.
Oman J Ophthalmol 6, 116–118
80. Michalewska Z, Michalewski J, Nawrocki J (2016)
Swept Source optical coherence tomography of choroidal nevi.
Can J Ophthalmol 51, 271–276
81. Mocellin S, Keilholz U, Rossi CR, Nitti D (2006)
Circulating tumor cells: the 'leukemic phase' of solid cancers.
Trends Mol Med 12, 130–139

82. Munzenrider JE (2001)
Uveal melanomas. Conservation treatment.
Hematol Oncol Clin North Am 15, 389–402
83. Nangia V, Jonas JB, Agarwal S, Khare A, Lambat S, Panda-Jonas S (2012)
Choroidal nevi in adult Indians: The Central India Eye and Medical Study.
Br J Ophthalmol 96, 1443–1444
84. Naumann G (1970)
Pigmentierte Naevi der Aderhaut und des Ciliarkörpers (eine klinische und histopathologische Untersuchungsreihe).
Adv Ophthalmol 23, 187–272
85. Ng CH, Wang JJ, Mitchell P, Amirul Islam FM, Wong TY (2009)
Prevalence and characteristics of choroidal nevi in an Asian vs white population.
Arch Ophthalmol 127, 314–319
86. Nichols EE, Richmond A, Daniels AB (2017)
Micrometastatic Dormancy in Uveal Melanoma: A Comprehensive Review of the Evidence, Mechanisms, and Implications for Future Adjuvant Therapies.
Int Ophthalmol Clin 57, 1–10
87. Onken MD, Worley LA, Ehlers JP, Harbour JW (2004)
Gene expression profiling in uveal melanoma reveals two molecular classes and predicts metastatic death.
Cancer Res 64, 7205–7209
88. Oosterhuis JA, Journée-de Korver HG, Kakebeeke-Kemme HM, Bleeker JC (1995)
Transpupillary thermotherapy in choroidal melanomas.
Arch Ophthalmol 113, 315–321
89. Papastefanou VP, Cohen VML (2011)
Uveal melanoma.
J Skin Cancer 2011, 573974
90. Payne K, Brooks J, Spruce R, Batis N, Taylor G, Nankivell P, Mehanna H (2019)
Circulating Tumour Cell Biomarkers in Head and Neck Cancer: Current Progress and Future Prospects.
Cancers (Basel) 11
91. (2002)
PDQ Cancer Information Summaries, Bethesda (MD)
92. Prescher G, Bornfeld N, Hirche H, Horsthemke B, Jöckel KH, Becher R (1996)
Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma.
Lancet 347, 1222–1225
93. Qiu M, Shields CL (2015)
Choroidal Nevus in the United States Adult Population: Racial Disparities and Associated Factors in the National Health and Nutrition Examination Survey.
Ophthalmology 122, 2071–2083
94. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V (1984)
Pathologic basis of disease.
3. Aufl. Saunders, Philadelphia

95. Scarlotta M, Simsek C, Kim AK (2019)
Liquid Biopsy in Solid Malignancy.
Genet Test Mol Biomarkers 23, 284–296
96. Scholes AGM, Damato BE, Nunn J, Hiscott P, Grierson I, Field JK (2003)
Monosomy 3 in uveal melanoma: correlation with clinical and histologic predictors of survival.
Invest Ophthalmol Vis Sci 44, 1008–1011
97. Schuster R, Bechrakis NE, Stroux A, Busse A, Schmittel A, Scheibenbogen C, Thiel E, Foerster MH, Keilholz U (2007)
Circulating tumor cells as prognostic factor for distant metastases and survival in patients with primary uveal melanoma.
Clin Cancer Res 13, 1171–1178
98. Schuster R, Bechrakis NE, Stroux A, Busse A, Schmittel A, Thiel E, Foerster MH, Keilholz U (2011)
Prognostic relevance of circulating tumor cells in metastatic uveal melanoma.
Oncology 80, 57–62
99. Seddon JM, Gragoudas ES, Egan KM, Glynn RJ, Howard S, Fante RG, Albert DM (1990)
Relative survival rates after alternative therapies for uveal melanoma.
Ophthalmology 97, 769–777
100. Shields CL (2008)
The hunt for the secrets of uveal melanoma.
Clin Experiment Ophthalmol 36, 277–280
101. Shields CL, Dalvin LA, Ancona-Lezama D, Yu MD, Di Nicola M, Williams BK, Lucio-Alvarez JA, Ang SM, Maloney S, Welch RJ, Shields JA (2019)
CHOROIDAL NEVUS IMAGING FEATURES IN 3,806 CASES AND RISK FACTORS FOR TRANSFORMATION INTO MELANOMA IN 2,355 CASES: The 2020 Taylor R. Smith and Victor T. Curtin Lecture.
Retina (Philadelphia, Pa) 39, 1840–1851
102. Shields CL, Dalvin LA, Yu MD, Ancona-Lezama D, Di Nicola M, Williams BK, Lucio-Alvarez JA, Ang SM, Maloney SM, Welch RJ, Shields JA (2019)
CHOROIDAL NEVUS TRANSFORMATION INTO MELANOMA PER MILLIMETER INCREMENT IN THICKNESS USING MULTIMODAL IMAGING IN 2355 CASES: The 2019 Wendell L. Hughes Lecture.
Retina (Philadelphia, Pa)
103. Shields CL, Furuta M, Berman EL, Zahler JD, Hoberman DM, Dinh DH, Mashayekhi A, Shields JA (2009)
Choroidal nevus transformation into melanoma: analysis of 2514 consecutive cases.
Arch Ophthalmol 127, 981–987
104. Shields CL, Furuta M, Thangappan A, Nagori S, Mashayekhi A, Lally DR, Kelly CC, Rudich DS, Nagori AV, Wakade OA, Mehta S, Forte L, Long A, Dellacava EF, Kaplan B, Shields JA (2009)
Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes.
Arch Ophthalmol 127, 989–998
105. Shields CL, Ganguly A, Bianciotto CG, Turaka K, Tavallali A, Shields JA (2011)
Prognosis of uveal melanoma in 500 cases using genetic testing of fine-

- needle aspiration biopsy specimens.
Ophthalmology 118, 396–401
106. Shields CL, Kaliki S, Furuta M, Mashayekhi A, Shields JA (2012)
Clinical spectrum and prognosis of uveal melanoma based on age at presentation in 8,033 cases.
Retina (Philadelphia, Pa) 32, 1363–1372
 107. Shields CL, Manalac J, Das C, Ferguson K, Shields JA (2014)
Choroidal melanoma: clinical features, classification, and top 10 pseudomelanomas.
Curr Opin Ophthalmol 25, 177–185
 108. Shields CL, Shields JA, Gross NE, Schwartz GP, Lally SE (1997)
Survey of 520 eyes with uveal metastases.
Ophthalmology 104, 1265–1276
 109. Shields CL, Shields JA, Gündüz K, Freire JE, Mercado G (1998)
Radiation therapy for uveal malignant melanoma.
Ophthalmic Surg Lasers 29, 397–409
 110. Shields CL, Shields JA, Perez N, Singh AD, Cater J (2002)
Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations.
Ophthalmology 109, 225–234
 111. Shields CL, Shields JA, Potter P de (1995)
Patterns of indocyanine green videoangiography of choroidal tumours.
Br J Ophthalmol 79, 237–245
 112. Siegel DT, Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE (2018)
Scleral Thinning after Transscleral Biopsy for Uveal Melanoma Using Lamellar Scleral Flap.
Ocul Oncol Pathol 4, 381–387
 113. Singh AD, Bergman L, Seregard S (2005)
Uveal melanoma: epidemiologic aspects.
Ophthalmol Clin North Am 18, 75-84, viii
 114. Singh AD, Bhatnagar P, Bybel B (2006)
Visualization of primary uveal melanoma with PET/CT scan.
Eye 20, 938–940
 115. Singh AD, Medina CA, Singh N, Aronow ME, Biscotti CV, Triozzi PL (2016)
Fine-needle aspiration biopsy of uveal melanoma: outcomes and complications.
Br J Ophthalmol 100, 456–462
 116. Singh AD, Turell ME, Topham AK (2011)
Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival.
Ophthalmology 118, 1881–1885
 117. Sisley K, Parsons MA, Garnham J, Potter AM, Curtis D, Rees RC, Rennie IG (2000)
Association of specific chromosome alterations with tumour phenotype in posterior uveal melanoma.
Br J Cancer 82, 330–338
 118. Sisley K, Rennie IG, Parsons MA, Jacques R, Hammond DW, Bell SM, Potter AM, Rees RC (1997)
Abnormalities of chromosomes 3 and 8 in posterior uveal melanoma

- correlate with prognosis.
Genes Chromosomes Cancer 19, 22–28
119. Stark MS, Gray ES, Isaacs T, Chen FK, Millward M, McEvoy A, Zaenker P, Ziman M, Soyer HP, Glasson WJ, Warriar SK, Stark AL, Rolfe OJ, Palmer JM, Hayward NK (2019)
A Panel of Circulating MicroRNAs Detects Uveal Melanoma With High Precision.
Transl Vis Sci Technol 8
120. Suesskind D, Scheiderbauer J, Buchgeister M, Partsch M, Budach W, Bartz-Schmidt KU, Ritz R, Grisanti S, Paulsen F (2013)
Retrospective evaluation of patients with uveal melanoma treated by stereotactic radiosurgery with and without tumor resection.
JAMA Ophthalmol 131, 630–637
121. Suesskind D, Ulmer A, Schiebel U, Fierlbeck G, Spitzer B, Spitzer MS, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S (2011)
Circulating melanoma cells in peripheral blood of patients with uveal melanoma before and after different therapies and association with prognostic parameters: a pilot study.
Acta Ophthalmol 89, 17–24
122. Sumich P, Mitchell P, Wang JJ (1998)
Choroidal nevi in a white population: the Blue Mountains Eye Study.
Arch Ophthalmol 116, 645–650
123. Tarlan B, Kiratli H (2016)
Uveal Melanoma: Current Trends in Diagnosis and Management.
Turk J Ophthalmol 46, 123–137
124. Tenkate TD (2017)
Ocular ultraviolet radiation exposure of welders.
Scand J Work Environ Health 43, 287–288
125. Tobal K, Sherman LS, Foss AJ, Lightman SL (1993)
Detection of melanocytes from uveal melanoma in peripheral blood using the polymerase chain reaction.
Invest Ophthalmol Vis Sci 34, 2622–2625
126. Toledo JJ, Asencio M, García JR, Morales LA, Tomkinson C, Cajigal C (2018)
OCT Angiography: Imaging of Choroidal and Retinal Tumors.
Ophthalmol Retina 2, 613–622
127. Torres V, Triozzi P, Eng C, Tubbs R, Schoenfield L, Crabb JW, Sauntharajah Y, Singh AD (2011)
Circulating tumor cells in uveal melanoma.
Future Oncol 7, 101–109
128. Tura A, Alt A, Lüke J, Grisanti S, Haritoglou C, Meyer CH, Nassar K, Lüke M (2016)
Biocompatibility of the vital dye Acid Violet-17 on retinal pigment epithelial cells.
Clin Ophthalmol 10, 1435–1445
129. Tura A, Lueke J, Grisanti S (2018)
Noncutaneous Melanoma, Brisbane (AU)
130. Tura A, Lüke J, Merz H, Reinsberg M, Lüke M, Jager MJ, Grisanti S (2014)
Identification of circulating melanoma cells in uveal melanoma patients by

- dual-marker immunoenrichment.
Invest Ophthalmol Vis Sci 55, 4395–4404
131. Tura A, Merz H, Reinsberg M, Lüke M, Jager MJ, Grisanti S, Lüke J (2016)
 Analysis of monosomy-3 in immunomagnetically isolated circulating melanoma cells in uveal melanoma patients.
Pigment Cell Melanoma Res 29, 583–589
 132. Tura A, Thieme C, Brosig A, Merz H, Ranjbar M, Vardanyan S, Zuo H, Maassen T, Kakkassery V, Grisanti S (2020)
 Lower Levels of Adiponectin and Its Receptor Adipor1 in the Uveal Melanomas With Monosomy-3.
Invest Ophthalmol Vis Sci 61, 12
 133. Ulmer A, Beutel J, Süsskind D, Hilgers R-D, Ziemssen F, Lüke M, Röcken M, Rohrbach M, Fierlbeck G, Bartz-Schmidt K-U, Grisanti S (2008)
 Visualization of circulating melanoma cells in peripheral blood of patients with primary uveal melanoma.
Clin Cancer Res 14, 4469–4474
 134. Ulmer A, Schmidt-Kittler O, Fischer J, Ellwanger U, Rassner G, Riethmüller G, Fierlbeck G, Klein CA (2004)
 Immunomagnetic enrichment, genomic characterization, and prognostic impact of circulating melanoma cells.
Clin Cancer Res 10, 531–537
 135. van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, Simpson EM, Barsh GS, Bastian BC (2009)
 Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi.
Nature 457, 599–602
 136. van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC (2010)
 Mutations in GNA11 in uveal melanoma.
N Engl J Med 363, 2191–2199
 137. Virgili G, Gatta G, Ciccolallo L, Capocaccia R, Biggeri A, Crocetti E, Lutz J-M, Paci E (2007)
 Incidence of uveal melanoma in Europe.
Ophthalmology 114, 2309–2315
 138. Wit S de, van Dalum G, Terstappen LWMM (2014)
 Detection of circulating tumor cells.
Scientifica (Cairo) 2014, 819362
 139. Wong LS, Bateman WJ, Morris AG, Fraser IA (1995)
 Detection of circulating tumour cells with the magnetic activated cell sorter.
Br J Surg 82, 1333–1337
 140. Woodman SE (2012)
 Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments.
Cancer J 18, 148–152
 141. Zimmerman LE (1965)
 MELANOCYTES, MELANOCYTIC NEVI, AND MELANOCYTOMAS.
Invest Ophthalmol 4, 11–41

142. Zloto O, Pe'er J, Frenkel S (2013)
Gender differences in clinical presentation and prognosis of uveal melanoma.
Invest Ophthalmol Vis Sci 54, 652–656



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck - Ratzeburger Allee 160 - 23538 Lübeck

Frau
Dr. med. Lüke
Klinik für Augenheilkunde

im Hause

nachrichtlich:

Herrn Prof. Grisanti
Direktor der Klinik für Augenheilkunde

Ethik-Kommission

Vorsitzender:

Herr Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Raspe

Universität zu Lübeck

Stellv. Vorsitzende:

Frau Prof. Dr. med. M. Schrader

Ratzeburger Allee 160

23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann

Tel.: +49 451 500 4639

Fax: +49 451 500 3026

janine.erdmann@medizin.uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 10-200

Datum: 17. Dezember 2010

Sitzung der Ethik-Kommission am 14. Dezember 2010

Antragsteller: Frau Dr. Lüke / Herr Prof. Grisanti

Titel: Bestimmung der Anzahl, des Monomie-3 Status zirkulierender Melanomzellen und Nachweis von Biomarkern des uvealen Primärtumors

Sehr geehrte Frau Dr. Lüke,

der Antrag wurde unter berufsethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und berufsrechtlichen Gesichtspunkten geprüft.

Die Kommission hat keine Bedenken mehr gegen die Durchführung des Studienvorhabens. Es wird darauf hingewiesen, dass auf der S. 2 der Einwilligungserklärung die Wendung „klinische Prüfung“ durch „klinische Studie“ sowie „Prüfzentrum“ durch „Studienzentrum“ zu ersetzen ist.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden. Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muß die Kommission umgehend benachrichtigt werden.

Nach Abschluß des Projektes bitte ich um Übersendung eines knappen Schlussberichtes (unter Angabe unseres Aktenzeichens), aus dem der Erfolg/Misserfolg der Studie sowie Angaben darüber, ob die Studie abgebrochen oder geändert bzw. ob Regressansprüche geltend gemacht wurden, ersichtlich sind.

Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Studie und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichem Gruß bin ich

Ihr

Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Raspe
Vorsitzender

anwesende Kommissionsmitglieder:

Prof. Dr. Dr. H.-H. Raspe
(Sozialmedizin, Vorsitzender der EK)
Prof. Dr. Schweiger
(Psychiatrie)
Prof. Dr. Handel
(Medizinische Informatik)
 Frau Prof. E. Stubbe
(Theologin)
Prof. Dr. Borck
(Medizin- und Wissenschaftsgeschichte)

Frau H. Müller
(Pflege)
 Dr. Kaiser
(Kinderchirurgie)
Herr Dr. Fieber
(Richter am Amtsgericht Ahrensburg)
 Prof. Schwinger
(Humangenetik)
 Dr. R. Vonthein
(Zentrum für Klin. Studien)

Herr Prof. Dr. Giesler
(Medizinische Klinik I)
 Frau Prof. Dr. M. Schrader
(Plastische Chirurgie, Stellv. Vors.)
Herr PD Lauten
(Kinder- und Jugendmedizin)
 Frau A. Faries
(Richterin am Amtsgericht Lübeck)



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23538 Lübeck

Frau
Dr. med. Lücke
Klinik für Augenhellkunde

Im Hause

nachrichtlich:
Herr Prof. Grisanti
Direktor der Klinik für Augenhellkunde

Ethik-Kommission

Vorsitzender:

Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Universität zu Lübeck
Stellv. Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann
Tel.: +49 451 500 4639
Fax: +49 451 500 3026

ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 13-219
Datum: 21. Januar 2014

Sitzung der Ethik-Kommission am 07. November 2013

Antragsteller: Frau Dr. Lücke / Herr Prof. Grisanti

Titel: Bestimmung der Anzahl des chromosomalen Status zirkulierender Melanomzellen bei Patienten mit Aderhautnaevus

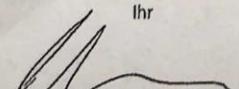
Sehr geehrte Frau Dr. Lücke,

vielen Dank für Ihr Schreiben vom 06. Januar 2014, in dem Sie unserem Wunsch nach weiteren Informationen zum Studienvorhaben nachkommen und die überarbeiteten Unterlagen vorlegen.

Die Kommission hat nunmehr keine Bedenken mehr.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden. Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muss die Kommission umgehend benachrichtigt werden. Die ärztliche und juristische Verantwortung des Studienleiters und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichem Gruß bin ich
Ihr


Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

11 Danksagung

Mein aufrichtiger und besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti, dem Direktor der Klinik für Augenheilkunde der Universität zu Lübeck, für die Möglichkeit, innerhalb seiner Abteilung diese Arbeit anfertigen zu dürfen und für seine Hilfe in der Planung, Fertigstellung und Korrektur dieser Arbeit.

Außerdem bedanke ich mich sehr bei meiner Betreuerin Frau Prof. Dr. rer. nat. Aysegül Tura für ihre unterstützende Betreuung dieser Dissertation.

Mein tiefster Dank gilt meiner Familie – meinem Ehemann und meinen beiden Söhnen, die mich in jeder Hinsicht während der Erstellung dieser Dissertation unterstützt haben. Ihre Motivation und Aufmunterung haben mich immer wieder dazu ermutigt, diese Arbeit fertigzustellen.

Nicht zuletzt möchte ich auch meinen Eltern danken, die mir das Medizinstudium ermöglicht haben, sowie insbesondere meiner Mutter, die mich stets zur Anfertigung dieser Dissertation ermutigt hat.