

Aus der
Universitäts-Hautklinik Tübingen

**Vorkommen multinukleärer melanozytärer Riesenzellen in
melanozytären Tumoren in chronisch lichtgeschädigter Haut**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Schinaia, Chiara Giulia

2021

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Bauer

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. Dr. H.-C. Bösmüller

Tag der Disputation: 23.08.2021

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis.....	i-ii
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 DAS MALIGNEN MELANOM (MM)	1
1.1.1 ALLGEMEINE DIAGNOSTIK UND STADIENEINTEILUNG BEI MALIGNEM MELANOM ..	3
1.1.2 THERAPIEOPTIONEN BEI MALIGNEM MELANOM.....	9
1.1.2.1 Operative Therapie und diagnostische und therapeutische Konsequenzen.....	9
1.1.2.2 Wächterlymphknoten-Biopsie (WLKB)	10
1.1.2.3 Medikamentöse Therapie	10
1.1.2.3.1 Interferon-alpha	10
1.1.2.3.2 Signaltransduktionsinhibitoren	11
1.1.2.3.3 Immuntherapie	11
1.1.2.3.4 Chemotherapie.....	11
1.1.3 KLINISCHE UND HISTOLOGISCHE EINTEILUNG DES MALIGNEN MELANOMS	12
1.1.3.1 Das superfiziell spreitende Melanom (SSM).....	12
1.1.3.2 Das noduläre Melanom (NM).....	13
1.1.3.3 Das akrolentiginöse Melanom (ALM).....	14
1.1.3.4 Die Lentigo maligna (LM).....	14
1.1.3.5 Das Lentigo maligna Melanom (LMM).....	16
1.1.3.6 Das amelanotische Melanom (AMM).....	16
1.1.3.7 Weitere Melanom-Varianten	17
1.2 MELANOZYTÄRE NÄVI	18
1.2.1 COMPOUND-NÄVI (CN)	18
1.3 CHRONISCH LICHTGESCHÄDIGTE HAUT UND LENTIGO SOLARIS	19
1.3.1 DIE SOLARE ELASTOSE	19
1.3.2 DIE LENTIGO SOLARIS	20
1.3.3 DIE KERATOSIS ACTINICA	20

1.4 DAS BASALZELLKARZINOM (BZK)	21
1.5 MULTINUKLEÄRE RIESENZELLEN (RZ)	23
1.5.1 DEFINITION UND HISTOLOGIE	23
1.5.2 BEISPIELE AUS DER DERMATOHISTOLOGIE.....	23
1.5.2.1 Riesenzellen aus Makrophagen	23
1.5.2.2 Riesenzellen aus Keratinozyten	24
1.5.2.3 Riesenzellen aus Melanozyten.....	24
1.6 ALLGEMEINE DERMATOHISTOLOGIE	25
1.6.1 3D-HISTOLOGIE.....	25
1.6.2 HÄMATOXYLIN-EOSIN FÄRBUNG (HE)	25
1.6.3 IMMUNHISTOCHEMIE.....	26
1.6.3.1 Melan-A	27
1.6.3.2 HMB-45.....	28
1.7 FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	29
2 MATERIAL UND METHODEN	30
2.1 MATERIAL	30
2.1.1 CHEMIKALIEN	30
2.1.2 GERÄTE	31
2.1.3 VERBRAUCHSMATERIALIEN	31
2.2 GEWEBEPROBEN	33
2.3 METHODEN	33
2.3.1 PROBENZUSCHNITT.....	33
2.3.2 3D HISTOLOGIE	34
2.3.3 SCHNELLFIXIERUNG	35
2.3.4 HERSTELLUNG VON PARAFFINBLÖCKEN.....	36
2.3.5 DIE HERSTELLUNG VON PARAFFINSCHNITTEN	37
2.3.6 ENTPARAFFINIERUNG UND GEWEBEVORBEHANDLUNG	39
2.3.7 DIE HÄMATOXYLIN-EOSIN FÄRBUNG (HE)	40
2.3.8 IMMUNHISTOCHEMIE.....	41
2.4 PATIENTENKOLLEKTIV	41

2.5 MELAN A FÄRBUNG BEI FRÜHER LENTIGO MALIGNA UND ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA	42
2.6 STUDIENDESIGN.....	42
2.7 ETHIK.....	43
2.8 STATISTIK.....	44
2.8.1 KREUZTABELLEN.....	44
2.8.2 CHI ² -TEST.....	44
2.8.3 FISHER-TEST	45
2.8.4 KONFIDENZINTERVALLE (KI)	45
2.8.5 ODDS-RATIO	46
2.8.6 VARIANZANALYSE (ANOVA).....	46
2.8.7 SIGNIFIKANZTEST	46
3 ERGEBNISSE.....	47
3.1 VERTEILUNG DER DIAGNOSEN IM PATIENTENGUT	47
3.2 GESCHLECHTERVERTEILUNG	49
3.2.1 GESCHLECHTERVERTEILUNG AUF GRUND DER DIAGNOSE.....	49
3.3 ALTERSVERTEILUNG	50
3.3.1 VARIANZANALYSE DES ALTERS NACH DIAGNOSE	52
3.4 LOKALISATIONEN DER LÄSIONEN	53
3.4.1 LOKALISATIONEN UND DIAGNOSEN	54
3.4.2 VORKOMMEN VON RIESENZELLEN IN FRÜHER LENTIGO MALIGNA IN EXTRAFAZIALER UND FAZIALER LOKALISATION	55
3.4.3 VERTEILUNG DES VORKOMMENS VON RIESENZELLEN IN COMPOUND-NÄVI NACH EXTRAFAZIALER UND FAZIALER LOKALISATION	57
3.4.4 VERTEILUNG DES VORKOMMENS VON RIESENZELLEN IN ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA UND BASALZELLKARZINOM-RÄNDERN NACH EXTRAFAZIALER UND FAZIALER LOKALISATION.....	59
3.5 AUSWERTUNG DES VORKOMMENS VON RIESENZELLEN IN DEN VERSCHIEDENEN DIAGNOSEN.....	59
3.5.1 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN ALLEN DIAGNOSEN.....	59

3.5.2 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN MELANOZYTÄREN LÄSIONEN (FRÜHE LENTIGO MALIGNA, ETABLIERTE LENTIGO MALIGNA, COMPOUND NÄVUS) IN HE-FÄRBUNG	61
3.5.3 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN HE- ODER MELAN-A-FÄRBUNG BEI FRÜHER LENTIGO MALIGNA, ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA UND JUNKTIONALEN RIESENZELLEN IN COMPOUND NÄVI	63
3.5.4 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN FRÜHER LENTIGO MALIGNA UND ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA IN HE - FÄRBUNG	65
3.5.5 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN FRÜHER LENTIGO MALIGNA UND ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA IN MELAN-A	66
3.5.6 VERGLEICH DER PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN FRÜHER LENTIGO MALIGNA UND ETABLIERTER LENTIGO MALIGNA IN HE- ODER/UND MELAN-A	69
3.5.7 PRÄVALENZ VON RIESENZELLEN IN FRÜHER LENTIGO MALIGNA, LENTIGO MALIGNA UND COMPOUND NÄVI IM VERGLEICH ZU BASALZELLKARZINOM-RÄNDERN IN HE-FÄRBUNG	71
3.5.7.1 Riesenzellen in früher Lentigo maligna im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung	71
3.5.7.2 Riesenzellen in etablierter Lentigo maligna im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung	74
3.5.7.3 Riesenzellen in Compound Nävi im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung	78
4 DISKUSSION	82
4.1 ALTERSVERTEILUNG	84
4.2 LOKALISATIONEN	84
4.3 RIESENZELLEN.....	84
4.4 ZELLKERNE	86
4.5 FAZIT ZUR FRAGESTELLUNG	86
5 ZUSAMMENFASSUNG	88
6 LITERATURVERZEICHNIS.....	90

7	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	94
8	TABELLENVERZEICHNIS	95
9	ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL	97
10	DANKSAGUNG	98

Abkürzungsverzeichnis

A

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destilatum
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	Akrolentiginöses Melanom
AMM	Amelanotisches Malignes Melanom
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.

B

BZK	Basalzellkarzinom
BZK-R	tumorfremie Basalzellkarzinom Ränder

C

CN	Compound-Nävus
----	----------------

D

DDG	Deutsche Dermatologische Gesellschaft
DX	Diagnose

E

ED	Erstdiagnose
----	--------------

F

FLM	Frühe Lentigo maligna
-----	-----------------------

H

HE	Hämatoxylin-Eosin
HMB-45	Human Melanoma Black - 45

K

KI	Konfidenzintervall
----	--------------------

L

LDH	Lactatdehydrogenase
LK	Lymphknoten
LM	etablierte Lentigo maligna
LMM	Lentigo maligna Melanom

M

MART Melanoma Antigen Recognized by T-cells

MEGCs Multinucleated Epidermal Giant Cells

N

NM Noduläres Melanom

O

OR Odds Ratio

R

RZ Riesenzellen

S

SSM Superfiziell Spreitendes Melanom

T

T Tumor

Tab. Tabelle

Td Tumordicke

U

UICC Union for International Cancer Control

W

WLK Wächterlymphknoten

WLKB Wächterlymphknotenbiopsie

Z

z. B. zum Beispiel

ZMM Zentralregister Malignes Melanom

1 Einleitung

1.1 Das maligne Melanom (MM)

Das maligne Melanom ist ein bösartiger Tumor, der aus Melanozyten entsteht und sich bei über 90% der Fälle an der Haut manifestiert [1]. Die Tumoren können auch an atypischen Lokalisationen entstehen wie z.B. in Schleimhäuten oder an der Aderhaut.

MM sind meist pigmentiert, können aber auch als amelanotische Melanome (AMM) auftreten.

Das MM steht in der Häufigkeit der Krebsneuerkrankungen laut Zahlen von 2016 aus dem deutschen Zentrum für Krebsregisterdaten in Deutschland bei Frauen an vierter Stelle und bei Männern an fünfter Stelle (Abb.1).

Das Lebenszeitrisko jemals an einem MM zu erkranken beträgt heutzutage in Deutschland bei Frauen 2% und bei Männern 1% [2, 3].

Intrinsische Risikofaktoren für die Entstehung eines MM sind ein heller Hauttyp (Typ 1 oder 2 nach Fitzpatrick), eine hohe Anzahl an Nävuszellnävi, dysplastische Nävi und kongenitale Nävi. Zudem können polygene Erbfaktoren zu einer familiären Häufung führen [4]. Immunologische Faktoren wie im Falle einer Immunsuppression bei HIV, bei Transplantationen oder anderen Krebserkrankungen haben auch einen Einfluss auf die Entstehung eines MM. Exogene Einflussgrößen wie z. B. die UV-Belastung spielen eine zentrale Rolle. Die Bedeutung toxischer, medikamentöser oder endokriner Einflüsse wird kontrovers diskutiert [5].

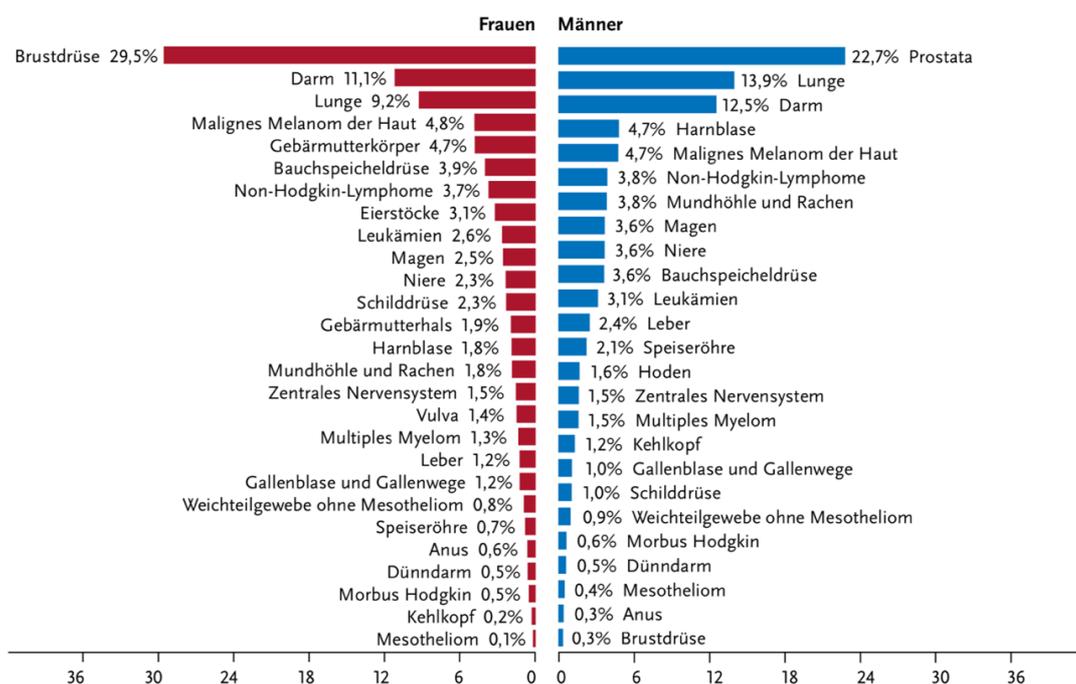


Abb. 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016 (ohne nicht melanotischen Hautkrebs) aus dem zentralen Krebsregister des RKI [3]

1.1.1 Allgemeine Diagnostik und Stadieneinteilung bei malignem Melanom

Dieses Kapitel soll nur als Übersicht dienen. Für detailliertere Darstellungen und Leitlinien sollten die aktuellen Empfehlungen der Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen Fachgesellschaften (AWMF) herangezogen werden.

Im Rahmen der Früherkennungsuntersuchungen sollte ein regelmäßiges „Hautkrebsscreening“ angeboten werden. Gesetzlich versicherte Patienten können sich generell ab dem 35. Lebensjahr alle 2 Jahre zum „Hautkrebsscreening“ in der Praxis oder in der Klinik vorstellen. So konnte in mehreren Arbeiten gezeigt werden, dass ein populationsbezogenes Screening mit einer standardisierten Ganzkörperuntersuchung mit Dermatoskopie zu einem Anstieg der Detektionsrate von Tumoren in einem frühen Stadium führt [6-9].

Jede neu auftretende oder sich verändernde Pigmentmolläsion sollte dermatologisch vorgestellt und untersucht werden.

Eine bekannte Hilfestellung zur Beurteilung der Dignität pigmentierter Hautläsionen ist hierbei die sogenannte ABCDE-Regel.

Hier stehen die 5 Buchstaben für jeweils ein klinisches Merkmal, anhand dessen die Beurteilung erfolgt [10].

Tabelle 1 gibt hierbei im Folgenden einen Überblick über die 5 Buchstaben mit ihrem jeweiligen Unterscheidungsmerkmal.

Die Asymmetrie (A= Asymmetry), die unregelmässigen Ränder (B=Border), unterschiedliche Farben (C= Colour), ein Durchmesser von über 6 mm (D= Diameter) und eine Entwicklung/Veränderung der Läsion über die Zeit (E=Evolving) sind verdächtig für eine maligne Läsion.

A	Asymmetry	asymmetrische Form, lässt sich nicht spiegeln
B	Border	unregelmäßig begrenzte Ränder
C	Colour	mehrere, unterschiedliche Farben
D	Diameter	Durchmesser >6mm
E	Evolving	die Läsion hat sich mit der Zeit verändert

Tab. 1 ABCDE - Regel modifiziert nach Abbasi et al.[10]

Auch das sogenannte „ugly duckling sign“ kann als Malignitätskriterium herangezogen werden [11].

Dieses klinische Zeichen beschreibt die offensichtlichen morphologischen Unterschiede zwischen einem einzelnen auffälligen Nävus im Vergleich zu den anderen umliegenden unauffälligen Nävi des Patienten [12]. Fortgeschrittene Melanome können im weiteren Verlauf ulzerieren und dadurch Blutungszeichen aufweisen[13, 14].

Um eine Verdachtsdiagnose zu stellen ist es notwendig, die suspekte Läsion mit einem Auflichtmikroskop zu beurteilen. Es gibt unterschiedliche Merkmale, die zur Diagnosestellung wegweisend sind. Hierzu zählen u.a. eine Asymmetrie mit Inhomogenität im Aufbau, eine starke Irregularität im Pigmentnetz mit verschiedenen Pigmentierungsmustern, sowie das Vorhandensein von Regressionszonen [15].

Zu Beginn wird die suspekte Läsion mit einem Auflichtmikroskop nach oben genannten Kriterien durch einen erfahrenen Dermatologen begutachtet. Bei konkretem Verdacht auf ein MM, sollte mittels Shave-Exzision oder mittels Rundskalpell eine Probiopsie entnommen werden. Sollte eine Totalexzision direkt möglich sein, sollte diese einer Probiopsie vorgezogen werden, da hier die histologische Gesamtarchitektur der Läsion besser begutachtet werden kann.

Das Gewebematerial wird daraufhin an das zuständige histopathologische

Labor eingeschickt und begutachtet. Sollte es sich bei der Läsion tatsächlich um ein MM handeln, wird falls noch nicht erfolgt, die chirurgische Totalexzision mit entsprechendem Sicherheitsabstand angestrebt. Die darauffolgende histopathologische Begutachtung ist hierbei wichtig um zu bestätigen, dass die komplette Läsion im Gesunden exzidiert wurde und um das entsprechende Stadium des Melanoms zu bestimmen [4, 16, 17].

Hierbei wird ein besonderes Augenmerk auf die Td nach Breslow gelegt. Sie ist definiert durch die absolute Td des Melanoms in Millimeter gemessen ab dem Stratum granulosum der Epidermis[1, 18, 19]. Die Td ist von außerordentlicher Bedeutung für das weitere Vorgehen. Sie ist für die T Klassifikation und die darauffolgende Stadien-Einteilung essentiell und besagt wie sich die Prognose, das Risiko für Satelliten- und Fernmetastasen verhält und welche entsprechende Diagnostik und Therapie durchgeführt werden müssen [4, 20].

Die TNM-Klassifikation des MM ist in folgenden Tabellen aus der S3-Leitlinie (Version 3.3, 2020) Melanom (Tab. 2-5) aufgeführt.

T Klassifikation	Tumordicke	Ulzeration
Tis Melanoma in situ	-	-
Tx Primäre Td nicht bestimmbar	-	-
T0 Kein Anhalt für Primärtumor, z.Bsp. bei okkultem Melanom	-	-
T1	<1,0 mm	Unbekannt
- T1a	<0,8 mm	ohne Ulzeration
- T1b	<0,8 mm	mit Ulzeration
	0,8 mm -1,0 mm	mit/ohne Ulzeration
T2	1,01-2,0mm	Unbekannt
- T2a	1,01-2,0mm	ohne Ulzeration
- T2b	1,01-2,0mm	mit Ulzeration
T3	2,01-4,0mm	Unbekannt
- T3a	2,01-4,0mm	ohne Ulzeration
- T3b	2,01-4,0mm	mit Ulzeration
T4	>4,0mm	Unbekannt
- T4a	>4,0mm	ohne Ulzeration
- T4b	>4,0mm	mit Ulzeration

Tab. 2: T-Klassifikation des Primärtumors bei malignem Melanom (AJCC 2016/UICC 2016)

N-Klassifikation	Anzahl der metastatisch befallenen LK	Vorhandensein von Intransit-, Satelliten-, und/oder Mikrosatelliten-Metastasen
Nx	Lymphknoten wurden nicht beurteilt (z.B. keine Wächterlymphknotenbiopsie durchgeführt, regionale Lymphknoten bereits andersweitig entfernt)	Nein
N0	Keine regionalen Lymphknotenmetastasen nachweisbar	Nein
N1	Ein metastatisch befallener Lymphknoten oder Intransit-, Satelliten-, und/oder Mikrosatelliten-Metastasen OHNE einen metastatisch befallenen Lymphknoten	Nein
N1a	Ein klinisch "okkult" metastatisch befallener Lymphknoten (z.B. diagnostiziert mittels Wächterlymphknotenbiopsie)	Nein
N1b	Ein klinisch metastatisch befallener Lymphknoten	Nein
N1c	Kein regionärer metastatisch befallener Lymphknoten	Ja
N2	Zwei oder drei metastatisch befallene Lymphknoten oder Intransit-, Satelliten-, und/oder Mikrosatelliten-Metastasen mit einem metastatisch befallenen Lymphknoten	
N2a	Zwei oder drei klinisch "okkulte" metastatisch befallene Lymphknoten (z.B. diagnostiziert mittels Wächterlymphknotenbiopsie)	Nein
N2b	Zwei oder drei metastatisch befallene Lymphknoten, bei denen mind. ein Lymphknoten klinisch diagnostiziert wurde.	Nein
N2c	Ein metastatisch befallener Lymphknoten ("okkult" oder klinisch diagnostiziert)	Ja
N3	Vier oder mehr metastatisch befallene Lymphknoten oder Intransit-, Satelliten-, und/oder Mikrosatelliten-Metastasen mit zwei oder mehr metastatisch befallenen Lymphknoten oder „verbackenes“ Lymphknotenkonglomerat ohne Intransit-, Satelliten-, und/oder Mikrosatelliten-Metastasen	
N3a	Vier oder mehr klinisch "okkulte" metastatisch befallene Lymphknoten	Nein
N3b	Vier oder mehr metastatisch befallene Lymphknoten, bei denen mind. ein Lymphknoten klinisch diagnostiziert wurde.	Nein
N3c	Zwei oder mehr "okkulte" oder klinisch metastatisch befallene Lymphknoten und/oder „verbackenes“ Lymphknoten-konglomerat	Ja

Tab. 3: N-Klassifikation des Primärtumors bei malignem Melanom (AJCC 2016/UICC 2016)

M-Klassifikation	Lokalisation	LDH
M0	Kein Hinweis auf Fernmetastasen	
M1	Vorhandensein von Fernmetastasen	
M1a	Fernmetastasen i.B. der Haut, Weichteile inkl. Muskel und /oder nicht regionale Lymphknoten	Nicht bestimmt oder nicht dokumentiert
M1a(0)		normal
M1a(1)		erhöht
M1b	Fernmetastasen i.B. der Lunge; mit oder ohne Beteiligung der unter M1a codierten Lokalisationen	Nicht bestimmt oder nicht dokumentiert
M1b(0)		normal
M1b(1)		erhöht
M1c	Fernmetastasen i.B. anderer viszeraler Lokalisationen OHNE ZNS-Beteiligung; mit oder ohne Beteiligung der unter M1a oder M1b codierten Lokalisationen	Nicht bestimmt oder nicht dokumentiert
M1c(0)		normal
M1c(1)		erhöht
M1d	Fernmetastasen i.B. des ZNS; mit oder ohne Beteiligung der unter M1a, M1b oder M1c codierten Lokalisationen	Nicht bestimmt oder nicht dokumentiert
M1d(0)		normal
M1d(1)		erhöht

Tab. 4: M-Klassifikation des Primärtumors bei malignem Melanom (AJCC 2016/UICC 2016)

T-Klassifikation	N-Klassifikation	M-Klassifikation	Stadium
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IB
T2a	N0	M0	
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	
T3b	N0	M0	
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	
T0	N1b, N1c	M0	IIIB
Jedes T, Tis	≥N1	M0	III
Jedes T	Jedes N	M1	IV

Tab. 5: Stadieneinteilug des malignen Melanoms (AJCC 2016/UICC 2016)[2]

1.1.2 Therapieoptionen bei malignem Melanom

1.1.2.1 Operative Therapie und diagnostische und therapeutische Konsequenzen

Die operative Therapie des MM stellt die wichtigste kurative Behandlungsmöglichkeit dar. Wenn möglich, sollte bei konkretem Verdacht auf ein MM eine sofortige Totalexzision mit geringem Sicherheitsabstand erfolgen. Wenn nicht möglich erfolgt eine Biopsie. Durch die histopathologische Begutachtung wird daraufhin die Td nach Breslow mit entsprechender Stadienklassifikation bestimmt. Bei der folgenden chirurgischen Weiterbehandlung muss hierbei je nach Td ein Sicherheitsabstand nach lateral und in die Tiefe bis zur Faszie beachtet werden, um lokalen Rezidiven vorzubeugen [4].

In der folgenden Tabelle (Tab. 6) sind die empfohlenen Sicherheitsabstände nach Td aufgeführt.

Td nach Breslow	Sicherheitsabstand
In situ	5 mm
bis 1,9 mm	10 mm
≥2,0 mm	20 mm

Tab. 6 : Empfohlene Sicherheitsabstände je nach Tumordicke[4]

Eine Besonderheit stellen das Lentigo maligna Melanom und das amelanotische Melanom dar. Bei diesen Tumoren erfolgt bei der Exzision der primäre Sicherheitsabstand gemäß der anatomischen Lokalisation und wird mittels histologisch mikrophischer Kontrolle überprüft [17].

Eine Lymphknoten-Sonographie der zugehörigen Lymphstation und der Intransitstrecke sollte ab dem Stadium IB erfolgen, um eine beginnende Ausbreitung über die Lymphbahnen auszuschließen.

1.1.2.2 Wächterlymphknoten-Biopsie (WLKB)

Eine Wächterlymphknoten-Biopsie sollte im Regelfall ab einer Td von 1,0 mm und ohne Hinweis auf loko-regionale oder Fernmetastasierung erfolgen. Bei zusätzlichen Risikofaktoren für einen positiven WLK wie z.B. Ulzeration und/oder erhöhte Mitoserate und/oder ein jüngeres Lebensalter (<40 Jahre) sollte die WLKB auch bei dünneren Primärtumoren (0,75–1 mm) durchgeführt werden [2].

Präoperativ werden die vom MM abführenden Lymphdrainagewege sowohl durch eine Farbe (Patentblau), als auch durch einen radioaktiven Marker, z. B. Technetium, markiert. Intraoperativ wird daraufhin durch eine Gamma-Sonde der WLK detektiert. Dieser wird daraufhin exziiert und von einem erfahrenen Histopathologen beurteilt [21]. Je nach pathologischem Befund im WLK kann eine Lymphadenektomie empfohlen werden. Bei einem Metastasendurchmesser <0,1mm kann von einer Lymphknotendissektion abgesehen werden[2, 22].

Eine anschließende adjuvante Radiotherapie zur Kontrolle der Metastasen wird bei einem Kapseldurchbruch, einem Befall von ≥ 3 Lymphknoten, einer Lymphknotenmetastase >3cm und bei lymphogenem Rezidiv empfohlen. Im Stadium IIB/C sollte eine adjuvante Interferontherapie angeboten werden. Es sollte im Stadium III überprüft werden ob eine adjuvante Therapie mit anti-PD1-AK [23] oder mit Signaltransduktionsinhibitoren (s.u.) in Frage kommt [2, 4].

1.1.2.3 Medikamentöse Therapie

1.1.2.3.1 Interferon-alpha

Eine adjuvante Therapie mit Interferon-alpha ist bei Patienten im Tumorstadium IIB/C empfehlenswert, da diese das rezidivfreie Überleben der Patienten verlängert [24, 25]. Diese Therapie wirkt immunmodulierend und wirkt der tumorösen Aussaat durch Aktivierung des Immunsystems gegen maligne Zellen entgegen [26, 27].

1.1.2.3.2 Signaltransduktionsinhibitoren

Bei der Entstehung des MM ist oft der KIT-RAF-RAS Signalweg beteiligt, bei dem es in verschiedenen Schritten der Aktivierung im Zellkern zu einem Wachstum der Zelle kommt. Die KIT-Rezeptor-Tyrosinkinase führt das Wachstumssignal in die Zelle, welches dann über NRAS und BRAF zum Zellkern transportiert wird. Bei aktivierenden Mutationen einzelner Komponenten des Signalwegs kommt es zu einer ungehemmten Proliferation der betroffenen Zelle. Diese Mutationen im Signalweg sind der Angriffspunkt der Target-Therapien. Ca. 50% der MM der Haut weisen eine Mutation im BRAF Gen auf, während in ca. 20% der Fälle eine NRAS Mutation vorliegt. Auch im Kit-Gen können aktivierende Mutationen vorkommen, insbesondere beim akralen MM [28]. Es sollte bei Patienten mit einem MM im Stadium III eine Mutationsanalyse vorgenommen werden, um eine entsprechende Target Therapie mit BRAF-, NRAS- oder cKIT- Inhibitoren, die in den Signaltransduktionsweg eingreift, einleiten zu können [2, 29-31].

1.1.2.3.3 Immuntherapie

Eine Immuntherapie mit Checkpoint Inhibitoren wie anti-PD1 und anti-CTLA-4 Antikörpern in der Therapie des MM im Stadium III und IV entspricht dem neuen Therapiestandard und nimmt immer mehr an Relevanz zu [23, 25]. Durch eine Blockade gewisser inhibitorischer Rezeptoren auf T-Zellen wird eine Immunaktivierung von tumorspezifischen T-Lymphozyten gegen Melanomzellen ausgelöst [27].

1.1.2.3.4 Chemotherapie

Eine Mono-und Polychemotherapie (insbesondere Carboplatin/Paclitaxel bzw. Dacarbazin) sollte bei Patienten mit Stadium IV Melanom und nicht-resezierbaren Metastasen angewendet werden, in denen Therapieschemata

mit einer Target Therapie oder eine Immuntherapie nicht in Frage kommen bzw. nicht wirksam waren [2, 32].

1.1.3 Klinische und histologische Einteilung des malignen Melanoms

Histologisch werden die MM in vier verschiedene „klassische“ Subtypen unter Berücksichtigung ihres anfänglichen Wachstumsmusters und des klinischen Bildes unterteilt: das superfiziell spreitende Melanom (SSM), das noduläre Melanom (NM), das Lentigo maligna Melanom (LMM) und das akrolentiginöse Melanom (ALM) [4].

Unter die Frühformen des Melanoms (in situ-Melanome) fällt die Lentigo maligna (LM), auf die in unserer Arbeit ein besonderes Augenmerk gerichtet wird. Die Proliferation der atypischen Melanozyten beschränkt sich beim Melanoma-in situ auf die Epidermis und das Epithel der Hautadnexen [4].

1.1.3.1 Das superfiziell spreitende Melanom (SSM)

Das SSM ist mit einem Anteil von ca. 57% in Deutschland das häufigste MM der Haut. Das mediane Alter bei Erkrankung liegt bei 52 Jahren[33].

Das SSM ist durch ein in der Initialphase überwiegend radial-horizontales Tumorwachstum gekennzeichnet, bevor es vertikal in die Tiefe wächst [15]. Bei früher Diagnosestellung weist somit das SSM eine gute Prognose auf. Es kann an jeder Stelle des Körpers vorkommen, bei weiblichen Patienten allerdings bevorzugt an den Unterschenkeln und im Rückenbereich. Bei männlichen Patienten hingegen überwiegend am Stamm [34, 35].

Um eine Verdachtsdiagnose zu stellen ist es notwendig, die suspekte Läsion mit einem Auflichtmikroskop zu beurteilen. Es gibt unterschiedliche Merkmale, die zur Diagnosestellung wegweisend sind. Hierzu zählen u.a. eine Asymmetrie mit Inhomogenität im Aufbau, eine starke Irregularität im Pigmentnetz mit verschiedenen Pigmentierungsmustern, sowie das Vorhandensein von Regressionszonen [15].

Histologie

In der Frühphase erkennt man in der Epidermis große atypische Melanozyten mit hellem Zytoplasma.

Zudem charakterisieren sich die SSM durch atypische epitheloide Melanozyten, die man in sogenannten „cluster“-Formationen oder einzeln in der Epidermis auffindet. Typischerweise zeigt sich eine pagetoide Aufwärtswanderung der Melanozyten, häufig sind auch die Adnexstrukturen betroffen. Die Tumorzellen imponieren durch ein großes Zytoplasma. Außerdem sind pleomorphe Nuklei und prominente Nukleoli auffällig. Regressionszonen können zu einem asymmetrischen Gesamterscheinungsbild führen. Die Epidermis kann verdünnt oder aufgebraucht sein [1].

1.1.3.2 Das noduläre Melanom (NM)

Das NM ist mit 21,4% das zweithäufigste Melanom der Haut. Das mediane Alter bei Erkrankung liegt in Deutschland bei 56 Jahren [17]. Dieses Melanom-Typ entsteht primär de novo oder seltener sekundär auf dem Boden eines bereits vorhandenen pigmentierten melanozytären Nävus.

Das NM zeichnet sich insbesondere durch ein aggressives vertikales Wachstum aus. Das horizontale Wachstum ist nur kurzzeitig oder gar nicht vorhanden [4]. So wird die Basalmembran früh durchbrochen und es kann innerhalb von wenigen Wochen und Monaten zu einer beträchtlichen Td mit Metastasenbildung kommen [1, 17].

Histologie

Die Histologie des NM fällt durch eine Masse an epitheloiden, dysplastischen und runden Tumorzellen mit hyperchromatischen Nuklei auf, die die Epidermis zur Oberfläche hin infiltrierte und aufbraucht („consumption“). Es zeigt sich wenig bis kein horizontales Wachstum (junktionaler Anteil geht weniger als zwei Reteleisten über den dermalen hinaus).

Es fehlt eine dermale Ausreifung der Melanozyten, die bis in die Tiefe dermal sichtbare atypische Mitosen aufweisen. Es zeigt sich ein sheet-artiges Wachstum. Eine Ulzeration kommt häufig vor [1].

1.1.3.3 Das akrolentiginöse Melanom (ALM)

Das ALM findet sich meist an nicht sonnenexponierten Lokalisationen wie zum Beispiel in der Leistenhaut der Hände und Füße, sowie peri- und subungual. Es gilt daher als unabhängig von der UV-Strahlungseinwirkung und manifestiert sich in jedem Hauttyp mit gleicher Inzidenz. Bei Menschen mit Hauttyp IV und V ist es der häufigste Melanom-Typ[36].

Histologie

Das ALM fällt in der Histologie durch eine irreguläre Hyperplasie der Epidermis mit ausgeprägter Hyperkeratose auf. Im Bereich der dermo-epithelialen Junctionszone finden sich atypische Melanozyten als lentiginöse Einzelzellen und in Nestern und zeigen eine kräftige intraepidermale, pagetoide Aufwärtswanderung. Dermale Melanozyten sind häufig spindelförmig oder epitheloid. Weitere typische Merkmale sind eine epidermale Akanthose, eine Elongation der Reteleisten und eine Ausbreitung entlang der Schweißdrüsen [1, 37].

1.1.3.4 Die Lentigo maligna (LM)

Die LM ist die Vorstufe des Lentigo maligna Melanoms (LMM), ein Melanoma in situ. Sie entsteht auf lichtgeschädigter Haut, weswegen die Läsion insbesondere im Gesicht oder im Nackenbereich auftritt. Epidemiologisch findet man die LM vor allem in Menschen ab dem 60. Lebensjahr, Frauen sind häufiger betroffen als Männer[38].

Man geht davon aus, dass das Risiko einer LM in ein LMM überzugehen bei ca. 5% liegt[39].

Klinisch makroskopisch imponiert die LM als solitäre asymmetrische und irreguläre bräunlich bis schwarz-braune Makula mit dermatoskopisch irregulärem Pigmentnetz, Ausbildung von rhomboidalen Pigmentmustern und einer Hyperpigmentierung um die Follikelöffnungen („circle in a circle“) [17].

Wir unterscheiden in unserer Arbeit die frühe Lentigo maligna (FLM) von der etablierten Lentigo maligna (LM).

Histologie der frühen Lentigo maligna (FLM)

Da es sich bei der LM um ein Melanoma-in situ handelt, wird hier die Basalmembran nicht durchbrochen. Man findet daher keine intradermal gelegene Tumorzellen.

Eine frühe LM kennzeichnet sich durch eine Vermehrung überwiegend einzeln stehender Melanozyten (asymmetrisch und unscharf begrenzt) mit beginnendem konfluierendem Wachstum und nur initialer Nestbildung, beginnendem Wachstum entlang der Adnexe und beginnender Pleomorphie. Teils zeigt sich eine epidermale Aufwärtswanderung.

Wichtig und schwierig ist die Unterscheidung zu einer Melanozytenhyperplasie in chronisch Licht geschädigter Haut, bei der die Melanozyten vermehrt sind, aber regelmäßig einzelnstehend ohne konfluierendes Wachstum und ohne Wachstum in die Adnexe.

Histologie der etablierten Lentigo maligna (LM)

Vor allem in der Junktionszone sind teils einzeln stehende, teils dicht gelagerte Melanozyten. Im Vergleich zur frühen Lentigo Maligna sind deutlich mehr Melanozyten- Nester vorhanden. Einige wenige atypische Melanozyten können auch in höheren Epidermislagen vorhanden sein, die Epidermis ist zudem häufig atroph. Im Stratum papillare findet sich eine aktinische Elastose als Zeichen einer langjährigen UV Exposition [1, 37]. Ausgeprägte Infiltration entlang der Adnexe.

1.1.3.5 Das Lentigo maligna Melanom (LMM)

Die Häufigkeit des LMM liegt bei ca. 9% aller Melanome der Haut. Es entsteht vorwiegend auf lichtgeschädigter Haut z.B. im Gesichts- und Kopfhautbereich, kann aber auch an lichtexponierten Arealen der Extremitäten vorkommen [17, 40].

Es entwickelt sich aus einer seit Jahren vorbestehenden LM (ein Melanoma in situ) und findet sich bevorzugt bei Patienten ab dem 70. Lebensjahr.

Das LMM zeichnet sich durch ein sehr langsames, zunächst überwiegend radial-horizontales Tumorwachstum aus. Die vertikale und invasive Wachstumsphase stellt sich oft erst nach Jahren ein. Hierdurch erklärt sich die eher günstige Prognose des LMM [41].

Histologie

Die LMM sind durch eine schmale Epidermis gekennzeichnet. Eine aktinische Elastose ist im Stratum papillare vorhanden. Vor allem in der Junctionszone sind teils einzeln stehende, teils in Nestern gelegene atypische teils spindelförmige, teils epitheloide Melanozyten zu finden. Charakteristisch sind eine zunächst lineare basale Verdichtung atypischer Melanozyten. In späteren Stadien tritt eine Nestbildung auf. In höheren Epithellagen können einzelne atypische Melanozyten angetroffen werden. Es zeigen sich zudem multinukleäre Melanozyten. Die Adnexstrukturen sind beteiligt, insbesondere die Haarfollikel. Das Haarfollikelepithel ist oftmals linear besiedelt. In der Dermis sind unterschiedlich dichte, Tumoraggregate sichtbar [1, 15, 42].

1.1.3.6 Das amelanotische Melanom (AMM)

Das amelanotische Melanom ist ein unpigmentiertes MM und wird oft fehldiagnostiziert und für einen anderen epidermalen Tumor gehalten, z.B. ein Basalzellkarzinom oder eine aktinische Keratose. AMM sind oft an Händen und Füßen lokalisiert. Alle o.g. Subtypen können als amelanotische Formen vorkommen. Maligne Zellen enthalten wenig bis gar kein Pigment [15, 43].

Histologie

Histologisch zeigt sich das AMM ähnlich wie die pigmentierten Formen, allerdings mit nur wenig bis gar keinem Melanin [43].

1.1.3.7 Weitere Melanom-Varianten

Es werden klinisch und histologisch noch weitere, seltene Varianten des MM beschrieben. Hierauf soll allerdings in dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden.

- Melanom mit vollständiger Regression
- Nävoides Melanom
- Desmoplastisches Melanom
- Ballonzell-Melanom
- Genestetes Melanom „nested melanoma of the elderly“

1.2 Melanozytäre Nävi

Melanozytäre Nävi sind gutartige Pigmenttumoren, die am gesamten Integument vorzufinden sind. Sie können sowohl in der Epidermis als auch in der Dermis lokalisiert sein. Es lassen sich hierbei erworbene von angeborenen melanozytären Nävi unterscheiden.

Epidemiologisch ist die Prävalenz der melanozytären Nävi in Patienten abhängig von Alter, der ethnischen Zugehörigkeit, der Genetik sowie von Umweltfaktoren. Hellhäutige Menschen tendieren zu einer erhöhten Anzahl an melanozytären Nävi, während dunkel pigmentierte Hauttypen eher zu melanozytären Nävi an Handflächen und Fußsohlen neigen [44, 45]. Eine erhöhte Sonnenexposition vor allem in der Kindheit erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten melanozytärer Nävi. Meist kommt es im Laufe des Lebens zu einer Vermehrung der Anzahl der Nävi. Ab dem 30. Lebensjahr lässt sich wiederum eine Abnahme der Anzahl der Nävi beobachten [46, 47].

In ca. 25-30% der Fälle entsteht ein MM aus einem vorbestehenden melanozytären Nävus. Somit nimmt das Risiko für eine Entartung mit steigender Anzahl an melanozytären Nävi zu [1, 48, 49].

Histologisch lassen sich drei Typen unterscheiden:

Den Junctionstyp, den Compoundtyp und den dermalen Typ [50].

In dieser Arbeit wurden ausschließlich Compound-Nävi untersucht.

1.2.1 Compound-Nävi (CN)

CN sind melanozytäre Nävi, die epidermo-dermal lokalisiert sind. Es finden sich sowohl dermale als auch epidermale Melanozyten-Ansammlungen.

Makroskopisch imponiert der CN häufig mit einer zerklüfteten und knotigen Oberfläche.

Histologie:

CN weisen histologisch Komponenten auf, die einerseits für junctionale, andererseits für dermale melanozytäre Nävi charakteristisch sind. Eine symmetrische Architektur der Läsion mit scharfer seitlicher Begrenzung ist typisch.

Als junctionale Komponente sind melanozytäre Nester in der basalen Epidermis zu finden. Die dermale Komponente besteht aus Melanozytennestern, die dermal lokalisiert und in ein Kollagenstroma eingebettet sind. Als Zeichen einer Ausreifung der Nävuszellen werden die Melanozyten und ihre Kerne zur Tiefe hin kleiner. Es sind keine Atypien sichtbar. Teils können Mitosen erkennbar sein. Zudem kann sich ggf. an der Basis des Nävus ein entzündliches Begleitinfiltrat zeigen [1, 50].

1.3 Chronisch lichtgeschädigte Haut und Lentigo solaris

Chronisch lichtgeschädigte Haut entsteht durch eine langjährige Exposition gegenüber UV- Licht. Der Schaden lässt sich durch verschiedene Manifestationen an der Haut feststellen, die hier im Folgenden nun näher beschrieben werden.

1.3.1 Die solare Elastose

Die solare Elastose, auch Elastosis actinica genannt, tritt bei chronischer UV-Lichtexposition der Haut auf. Makroskopisch zeigt sie sich als Vergröberung der Haut mit teils rhomboider Faltenbildung und unregelmässiger Pigmentierung. In fortgeschrittenen Stadien kann man folliculäre Hornretentionen und eine Hypertrichose beobachten.

Histologie

In der Histologie zeigt sich in HE Präparaten eine bläuliche Verfärbung der oberen Dermis mit einer Ansammlung von unregelmässig angeordneten und

verdickten, basophil degenerierten elastischen Fasern. Bei stärkerer Ausprägung bilden sich homogene Plaques aus basophil degenerierten elastischen Fasern [51].

1.3.2 Die Lentigo solaris

Die Lentigo solaris ist ein Zeichen der chronischen UV-Einwirkung. Sie ist bei 90% der Bevölkerung über dem 60 Lebensjahr vorhanden. Sie findet sich vor allem in lichtexponierten Arealen, wie zum Beispiel im Kopf-, Gesichts-, oder Dekolletébereich, sowie an Armen und Handrücken [52]. Es handelt sich um hellbraune und dunkelbraune Flecken in chronisch lichtexponierter Haut.

Histologie

Es findet sich ein atrophisches Epithel zwischen noch erhaltenen oder abgeflachten Reteleisten. Häufig sind die Reteleisten aber auch netzartig verlängert, zudem zeigt sich basal eine Hyperpigmentierung der Keratinozyten. Es ist auch eine minimale melanozytäre Hyperplasie möglich. Teils zeigen sich Melanophagen in der oberen Dermis. Durch den chronischen UV-Lichtschaden besteht zudem eine aktinische Elastose [53, 54].

1.3.3 Die Keratosis actinica

Die Keratosis actinica entsteht nach langjähriger UV Lichtexposition an sonnenexponierten Stellen wie dem Kopf, den Armen und den Händen. Sie imponiert klinisch als schuppige, erythematöse Makula mit knotigen und erosiven Anteilen. Die Hauterscheinung tritt häufig bei älteren Menschen auf. Es handelt sich um ein in-situ Karzinom der Keratinozyten der Epidermis.

Histologie

Histologisch zeigen sich eine (Ortho-)Hyperkeratose und Parakeratose (Wechsel von „pink and blue“), oberflächliche Erosionen und auf akanthotisch verbreitertem oder atrophischem Epithel. Es sind vermehrt Mitosen sichtbar,

doch es ist keine Invasivität vorhanden. Oftmals zeigt sich ein entzündliches Begleitinfiltrat. [55].

1.4 Das Basalzellkarzinom (BZK)

Das BZK ist der weltweit häufigste bösartige Tumor der Haut. Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Das Durchschnittsalter liegt bei 60 Jahren [56]. Jüngere Menschen können aber ebenso betroffen sein, insbesondere dann, wenn ein genetischer Defekt - wie beispielsweise beim Gorlin-Goltz-Syndroms - vorbesteht. Am häufigsten sind Menschen mit einem Hauttyp I oder II betroffen [57].

Ätiologisch lassen sich einerseits exogene und andererseits endogene Risikofaktoren unterscheiden. Zu den exogenen Faktoren zählen die UV-Lichtexposition, ionisierende Strahlung oder die Exposition zu Karzinogenen wie Arsen oder Teer. Zu den endogenen Risikofaktoren zählen eine vorhandene Immunsuppression oder genetische Faktoren. Auch chronische Entzündungen können zur Entstehung eines BZK führen [58].

Es sind fünf verschiedene klinische Haupttypen des BZK bekannt, die in folgender Tabelle aufgeführt sind (Tab.7) [56, 57].

BZK - Subtyp	Klinisches Erscheinungsbild
noduläres (solides) BZK	- häufigste Variante - glasig, breitbasiger knotiger Tumor mit Teleangiektasien
superfiziellles BZK	- Rumpfhautbasaliom - flache, rot-bräunliche Plaque, einzelne Teleangiektasien - Schuppung möglich
fibrosierendes BZK	- hautfarbene, indurierte, eingesunkene narbenartige Plaque - tief infiltrierendes Wachstum

fibroepitheliales BZK (Pinkus-Tumor)	- teils epithelialer und teils mesenchymaler Misch tumor
ulzeriertes BZK	- Ulcus rodens oder Ulcus terebrans - destruktives Wachstum - Entartungstendenz

Tab. 7: Klassifikation der Basalzellkarzinome

Ferner sind weitere klinische und histologische Sonderformen bekannt, auf die in dieser Arbeit kein näherer Bezug genommen wird.

Die meisten BZK entstehen im Gesicht, an den Ohren und am Kapillitium, somit auf Arealen die stark sonnenexponiert sind [59, 60].

Klinisch imponiert das BZK durch einen meist hautfarbenen Tumor mit perlschnurartigem Saum und dem Vorhandensein von Teleangiektasien. Eine zentrale Delle oder Ulzeration kann vorhanden sein.

Histologie

Histologisch zeigt sich das BZK als basaloider epithelialer Tumor. Das basaloide Epithel formt eine Palisade mit Ausbildung eines Retraktionsspalts zwischen Tumor und Bindegewebe. Zentral sind die Kerne dichter beieinander und Mitosen werden sichtbar. Es können nekrotische Körperchen detektierbar sein.

Ein muzinöses Stroma hilft bei der Unterscheidung zwischen anderen epithelialen Tumoren. In manchen Tumoren sind Zeichen der Regression vorhanden [55, 61].

1.5 Multinukleäre Riesenzellen (RZ)

1.5.1 Definition und Histologie

Multinukleäre RZ werden in der dermatologischen Histopathologie als Zellen beschrieben, die mehr als zwei Nuklei enthalten.

1.5.2 Beispiele aus der Dermatohistologie

RZ, die in der Dermatohistologie eine Rolle spielen, können zum Beispiel aus Makrophagen, aus Keratinozyten der Epidermis und aus Melanozyten entstehen.

In unserer Arbeit wird ein besonderes Augenmerk auf die multinukleären melanozytären RZ gerichtet.

1.5.2.1 Riesenzellen aus Makrophagen

RZ die aus Makrophagen entstehen lassen sich einteilen in

1. Langhans RZ
2. Fremdkörper RZ
3. RZ in Xanthelasma, sogenannte „Touton giant cells“

Langhans RZ entwickeln sich aus dem retikuloendothelialen System. Sie treten bei Erkrankungen auf, die mit granulomatösen Entzündungen vergesellschaftet sind. Charakteristisch ist die hufeisenförmige Aneinanderreihung ihrer Zellkerne im Zytoplasma. Die Aufgabe dieser Zellen ist noch nicht vollständig klargelegt, sie sollen aber die chronische Entzündung im Gewebe unterstützen [62-64].

Fremdkörper RZ entstehen im Rahmen einer chronischen Entzündungsreaktion bei einem Kontakt des Immunsystems mit Fremdkörpern. Hier treten die aus Makrophagen entstandenen mehrkernigen RZ auf.

RZ in Xanthelasma, sogenannte „Touton giant cells“ können im Rahmen von Stoffwechselstörungen auftreten.

1.5.2.2 Riesenzellen aus Keratinozyten

RZ ,die aus Keratinozyten der Epidermis entstehen kann man gliedern in

1. Epidermale RZ bei Herpes-Vireninfektion
2. Mehrkernige RZ der Epidermis

Epidermale RZ bei Akantholyse sind mit Herpesviren assoziiert. In einem sogenannten zytologischen „Tzanck Test“ können diese multinukleären RZ detektiert werden [65]. Hierbei wird aus der Basis eines Bläschens Zellmaterial gewonnen und zytologisch untersucht. Multinukleäre RZ dienen, wenn sie zusammen mit akantolytischen Zellen vorzufinden sind, als Hinweis auf eine Herpes simplex- Varizellen- oder Herpes zoster-Infektion [66-68].

1.5.2.3 Riesenzellen aus Melanozyten

Unsere Arbeit konzentriert sich auf die melanozytären RZ.

RZ, die aus Melanozyten entstehen, lassen sich einteilen in

1. Einkernige melanozytäre RZ
2. Mehrkernige melanozytäre RZ

Einkernige melanozytäre RZ sind große Zellen, die in Ballonzell-Nävi und Ballonzell-Melanomen in Form von „Baloon-Cells“ vorkommen können. Diese zeigen sich als ballonartig aufgetriebene Zellen mit vakuolisiertem oder feingranulärem Zytoplasma[1]. Diese Zellen können auch mehrkernig sein. Im Unterschied zum Balloonzell-Nävus zeigen sich beim Ballonzell-Melanom pleomorphe, hyperchromatische Kerne sowie Mitosen [54, 69].

Mehrkernige melanozytäre RZ sind Melanozyten die zwei oder mehr Nuklei enthalten. Sie wurden bei LM und LMM, aber auch bei Nävi mit primär junktionaler Komponente [70] beobachtet [71, 72]. RZ zeigen sich sowohl dermal, als auch junktional.

Sie entstehen nach langjähriger UV-Lichtexposition [73]. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft konnte noch nicht abschließend festgestellt werden, ob

diese RZ durch Kernteilung der Melanozyten ohne darauffolgende Zellteilung entstehen, oder ob sie sich bei einer Fusion von zwei verschiedenen Melanozyten ausbilden[70]. Spezielle Funktionen sind unbekannt. Das Vorhandensein von multinukleären RZ wurde als sinnvolles histologisches Merkmal erachtet, um einem LMM von einem SSM zu unterscheiden [71]. In manchen Fällen weisen die multinukleären RZ dendritische Prozesse auf und haben eine sternförmige Morphe, weswegen sie in diesen Fällen als „Starburst giant cells“ bezeichnet werden. Mehrkernige melanozytäre RZ wurden auf Grund Ihrer Ähnlichkeit zu Touton-Zellen in Xanthelasma als „Touton-like giant cells“ auch in Spitz Nävi beschrieben [74]. Der Name ergibt sich aus ihrer Ähnlichkeit zu RZ in Xanthelasma (s.o.).

1.6 Allgemeine Dermatohistologie

1.6.1 3D-Histologie

Bei der Exzision gewisser Hauttumoren (z.B. BZK oder LM) ist eine kontinuierliche dreidimensionale Schnitttrandkontrolle sinnvoll um zu erkennen, ob sich noch Tumorreste im Randbereich oder in der Basis befinden[75, 76]. Es konnte gezeigt werden, dass es durch diese Methode zu weniger Rezidiven kommt [75]. Ziel der 3D-Histologie ist die lückenlose, dreidimensionale Randkontrolle von Gewebeproben, die mit Faden, Einschnitt oder Farbe markiert sind.

3D-Histologien von der Hautklinik Tübingen werden von den zuständigen Ärzten direkt im Operationssaal zugeschnitten, in blaue Einbettkassetten gelegt und in das histologische Labor eingeschickt um hier nach Verarbeitung des Gewebes von einem Dermatohistologen beurteilt zu werden.

1.6.2 Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE)

Die 2-3 µm dicken Gewebeschnitte, die auf einen Objektträger aufgetragen werden, erscheinen erstmal grau-weiß und lassen histopathologisch keine

eindeutigen Zellstrukturen erkennen. Deswegen werden diese durch verschiedene Färbemethoden wie die der HE - Färbung, sichtbar gemacht. Die Farbstoffe haben zu unterschiedlichen Gewebeanteilen eine chemische Affinität, sodass die zellulären Strukturen sichtbar gemacht werden können. Die HE Färbung ist die wichtigste Übersichtsfärbung in der Histologie der Haut. Sie wird grundsätzlich durch ihre vielfältigen Funktionen in der Histopathologie weltweit als Standard angewendet [77].

Wie im Namen schon erwähnt ist die HE - Färbung eine Mischung zwischen Hämatoxylin und Eosin. Die Brillanz der Farbe kann durch den Zusatz von Phloxin verstärkt werden.

In der Form des basischen Hämalaun entwickelt Hämatoxylin intensiv färbende Eigenschaften. Anionische Biopolymere werden durch den kationischen Metallkomplexfarbstoff Hämatoxylin blau gefärbt. Dies betrifft zum Beispiel die negativ geladenen Phosphatgruppen der Kernstrukturen der DNA und RNA im Zellkern[77, 78].

Eosin ist ein synthetischer, anionischer Farbstoff und liegt in leicht saurer Lösung vor. Die H⁺ Ionen dieser sauren Lösung geben dem Zytoplasma eine positive Ladung, so dass sich das negativ geladene Eosin anlagern kann. Es werden hierbei vor allem Zytoplasma- oder Faserstrukturen rot gefärbt und sichtbar gemacht. Eine interstitielle Muzinverteilung, Faserverläufe, Pilze und Parasiten wie zum Beispiel Leishmanien lassen sich durch diese Färbung auch darstellen[79].

Die Färbung eignet sich sehr gut für Färbautomaten.

1.6.3 Immunhistochemie

Die immunhistochemischen Methoden erfolgen zur Immuntypisierung der histologischen Präparate. Auf Grund der teils histologisch atypisch erscheinenden MM kann hier die Immunhistochemie hilfreich sein zur Bestätigung der Diagnose. Die Anzahl der korrekten Diagnosen konnte dank der Nutzung von spezifischen Antikörpern verbessert werden [80-82].

Die Primärantikörper binden spezifisch an ihre jeweiligen Antigene.

Der Nachweis der Primärantikörper erfolgt mit Hilfe der Polymer-Methode: an ein Polymer-Rückrad sind Sekundärantikörper und die Alkalische Phosphatase gekoppelt. Der Sekundärantikörper ist gegen die Spezies des Primärantikörpers gerichtet und bindet dort. Die anschließende Farbreaktion wird durch das Enzym katalysiert.

Im Folgenden werden die in dieser Arbeit verwendeten immunhistochemischen Färbungen Melan-A und HMB-45 beschrieben.

1.6.3.1 Melan-A

Melan-A ist eine Abkürzung für "melanocyte antigen", auch MART1 genannt, welches ein Akronym ist für „Melanoma Antigen Recognized by T-cells“.

Wie der Name schon andeutet ist das MART1 Antigen ein Melanom-spezifisches Protein, welches vom MART-1 Gen kodiert wird. Dieses wird von autologen zytotoxischen T-Lymphozyten erkannt. Es wird von Melanozyten in benignen melanozytären Nävi sowie von malignen Melanomen exprimiert [83]. In der Dermatohistologie wird allgemein der Antikörper A103 verwendet. Dieser ist in der Lage das MART1 Antigen in Zellen melanotischen Ursprungs zu erkennen und zu markieren [84]. Von A103 können auch Gewebe nicht-melanozytären Ursprungs gefärbt werden wie z.B. adrenokortikale Karzinome und Steroid Hormon produzierende Zellen. Man nimmt an, dass es in diesen Fällen bei A103 zu einer immunologischen Kreuzreaktion mit einem anderen genetischen Produkt als Melan-A kommt.

Dieser Marker ist somit nicht spezifisch für das MM und eignet sich nicht für die Differenzierung von melanozytären und nicht-melanozytären Tumoren [85]. Spindelzellige oder desmoplastische Melanome resultieren meist auf A103 negativ [81].

1.6.3.2 HMB-45

HMB-45 ist ein monoklonarer Antikörper. Er markiert das in Melanozyten und melanozytären Tumoren befindliche, zytoplasmatisch gelegene prämelanosomale Antigen gp100. Dieses Antigen ist eine Komponente der melanosomalen Oxidoreduktasen und ist somit spezifisch für Melanosomen. HMB-45 wird zur Differenzierung zwischen Melanomen und nicht-melanozytären Tumoren genutzt [86]. Es wurde eine Sensitivität für Melanome von 69% bis 93% beschrieben [81, 87, 88].

HMB-45 ist spezifisch für Melanome. Meist reagieren dermale Nävi nicht auf den Antikörper. Dysplastische Nävi können allerdings durchaus eine Positivität aufweisen [89, 90].

1.7 Fragestellung der Arbeit

In den bisher vorhandenen Publikationen wurden „Starburst Riesenzellen“ in lichtgeschädigter Haut als ein Hinweis für eine Lentigo maligna gewertet [91]. Es wurde hier allerdings nicht unterschieden, ob sich diese allgemein auf melanozytäre Tumoren (melanozytäre Nävi und LM) beziehen oder spezifisch auf eine Lentigo maligna hinweisen. In einem Review [70] darauf hingewiesen, dass Riesenzellen auch in melanozytären Nävi auftreten können.

In unserer Arbeit überprüfen wir, ob mehrkernige RZ, außer in frühen Formen der Lentigo maligna, auch in melanozytären Nävi vom Compound Typ vorkommen. Zudem wird untersucht, ob mehrkernige RZ auch in chronisch lichtgeschädigter Haut ohne melanozytären Tumor auftreten.

Unsere Fragestellung ist:

Wie ist das Vorhandensein von mehrkernigen melanozytären RZ in lichtgeschädigter Haut zu werten? Dienen sie als ein allgemeiner Hinweis auf melanozytäre Tumoren oder können sie auch in chronisch lichtgeschädigter Haut ohne melanozytären Tumor vorkommen?

Ist das Vorhandensein von mehrkernigen melanozytären Riesenzellen ein signifikanter Hinweis auf eine Lentigo maligna?

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Chemikalien

4,5 % gepuffertes Formalin	Universitätsapotheke
Entkalkungslösung (TB-2-Decalcifier)	Firma Thermo Shandon
Gewebemarkierungsfarbstoff	Firma WAK Chemie
Paraffin (Paraplast Plus)	Firma Mc Cormick
70 und 96% Alkohol	eigene Herstellung
100% Alkohol	Universitätsapotheke
Xylol	Universitätsapotheke
Eindeckmittel Pertex	Firma Medite
Hämatoxylin nach Gill	Firma Merck
Essigsäure 100 %	Firma Merck
Eosin G – Lösung, alkoholisch	Firma Merck
100 % Alkohol	Universitätsapotheke
70%, 80% und 96% Alkohol	eigene Herstellung
Alkohol vergällt	Universitätsapotheke
Ampuwa	Universitätsapotheke
Bond Wash x 10 Konzentrat	Firma Leica Biosystems
Bond Epitope Retrieval Solution 1	Firma Leica Biosystems
Bond Epitope Retrieval Solution 2	Firma Leica Biosystems
Bond Dewax	Firma Leica Biosystems
Bond Enzyme Pre-treatment	Firma Leica Biosystems
Bond Primary Antibody Diluent	Firma Leica Biosystems
Bond Polymer Refine Red Detection	Firma Leica Biosystems
Hämatoxylin Counterstainer	Firma Bio SB, Medac
Antikörper	Firma Agilent Dako
Warmes Leitungswasser	
Aqua destilatum	

2.1.2 Geräte

Excelsior Einbettautomat	Firma Thermo Scientific
Paraffinausgießstation TES 99	Firma Medite
Schlittenmikrotom Microm430	Firma Thermo Scientific
Rotationsmikrotom Microm355S	Firma Thermo Scientific
Tissue-Stainer TST 44	Firma Medite
Trockenschrank 55° C	
Färbeautomat Bond Max	Firma Leica Biosystems
Farbige Objektträger superfrost plus	Firma Thermo Scientific
Mikroskop BX40	Firma Olympus

2.1.3 Verbrauchsmaterialien

Schneidebrett
Einmalskalpell
Pinzette
Filterpapier
Korb für Einbettautomat
Wasserschale
Wasserbad
Waage
Stahlmaß
Beschriftungsstift
Metallförmchen
Pinsel
Objektträger
Objektträger-Ständer
Messerklingen
Färbeküvetten
Kurzzeitmesser
Färbekörbchen
Färbeküvetten
Pipetten

Messzylinder

Metallkörnchen mit Bügel für Schnitte

2.2 Gewebeproben

Die Gewebeproben stammten aus der Gewebebank der Universitäts-Hautklinik Tübingen. Diese Gewebeproben wurden nach der Entnahme in gepuffertem Formaldehyd fixiert und in Paraffin eingebettet. Das histologische Labor bearbeitete routinemäßig die Blöcke. Nach Anschluss der histologischen Routinediagnostik durch einen Dermatohistopathologen konnte auf die Paraffinblöcke zurückgegriffen werden.

2.3 Methoden

Die Präparate und Gewebelöcke wurden anhand der internen Arbeitsanweisungen aus dem Labor der Universitäts-Hautklinik Tübingen für Dermatohistologie verarbeitet. Im Folgenden eine Übersicht über die hier routinemäßig angewandte Methodik.

2.3.1 Probenzuschnitt

Die Haut- und Gewebeproben werden vom zuweisenden Arzt in einen 4,5%igem gepuffertem Formalin gefüllten Einmalprobenbehälter in das histologische Labor eingeschickt.

Die Gewebeproben werden zu Beginn im Gewebeprozessor auf Einbettkassettengröße zugeschnitten. Kleine Gewebeproben werden komplett in die Einbettkassetten gelegt und auffällige Gewebeteile dementsprechend aufgearbeitet. Von den großen Gewebeproben werden repräsentative Zuschnitte gefertigt. Mit Hilfe eines Stahlmaßes wird die Größe des Präparates bestimmt.

Bei einem Verdacht auf ein MM ist keine Schnelleinbettung möglich, die Proben werden dann über Nacht fixiert. Bei Melanomen wird das ganze Melanom in dünne Scheiben aufgearbeitet, wichtig ist hierbei die Td. Je nach Lamellengröße werden eine oder maximal zwei Scheiben in die Kassette gelegt. Spindelenden können als Restmaterial abgetrennt werden. Bei der Diagnose SSM (oberflächliches Melanom) kann Fettgewebe als Restmaterial abgetrennt werden. Der Zuschnitt beim NMM und ALM erfolgt mit Fettgewebe.

Bei Nachexzisionen werden, wenn die Narbe sichtbar ist, zwei Lamellen senkrecht zur Narbe herausgeschnitten. Bei der NE eines MM kann das Fettgewebe abgetrennt werden.

2.3.2 3D Histologie

Die Gewebeprobe wird in alle Richtungen aufgearbeitet. Die Markierung liegt normalerweise bei 12 Uhr. Das Ziel ist eine lückenlose, dreidimensionale Randkontrolle von Gewebeproben, die mit Faden (Einschnitt/Farbe) markiert sind. Sollte die Diagnose noch nicht bekannt sein oder bestätigt werden, wird die Mitte des Gewebestückes herausgeschnitten und dient zur Diagnosefindung.

Der Zuschnitt der Gewebeproben vor der Einbettung erfolgt unter dem Abzug. An der Probenunterseite wird zunächst die Basis abgetrennt, mit der Basisseite nach unten mit Paraffin ausgegossen und in eine gesonderte Kassette gelegt. In den ersten Paraffinschnitten kann man eventuell Tumorreste erkennen. Aus dem Restgewebestück wird die Mitte mit einem Einmalskalpell herausgeschnitten, so dass ein schmaler Rand stehen bleibt. Je nach Größe wird die Mitte geteilt oder in Lamellen aufgeschnitten.

Von dem übrigen Gewebe werden die Ränder zugeschnitten. Das ringförmige Gewebe wird in der Mitte geteilt und jeweils entsprechend nach links oder nach rechts auf die Außenränder gelegt. Um die Randkrümmung komplett plan legen zu können, kann von der Basisseite her der Rand ganz leicht eingeschnitten werden, um dann gerade gebogen ausgegossen zu werden. Bei den Paraffinschnitten solange tiefer geschnitten, bis sie vollständig auf dem Schnitt zu erkennen sind.

Bei Nachexzisionen und bestimmten Lokalisationen wird das fadenmarkierte Gewebestück in der Brotlaibtechnik aufgearbeitet. Hierbei ist zu beachten, dass eine lückenlose Randkontrolle bei der Brotlaibtechnik nicht möglich ist. Das Gewebestück wird bei dieser Technik auf der kompletten rechten Randseite (12 – 6 Uhr) mit roter Farbe markiert. Anschließend wird das ganze

Probenstück engmaschig in Lamellen aufgeschnitten. Die Lamellen werden auf die Epidermis gestellt. Dabei zeigt die Epidermis auf den unteren Kassettenrand. Beim letzten Lamellenstück zeigt die Epidermis allerdings auf den oberen Kassettenrand. Je nach Größe der Gewebeproben werden mehrere Kassetten benötigt.

Von allen Gewebeproben wird eine Skizze angefertigt, bei der die Schnittebenen, Kassetten und vorhandene oder selbst vorgenommene Markierungen eingezeichnet werden.

2.3.3 Schnellfixierung

Die in Formalin eingelegten Gewebeproben aus dem OP bei denen möglichst schnell eine Diagnose gestellt werden soll, können mit Hilfe der Schnellfixierung noch am selben Tag in den Einbettungszyklus genommen werden.

Bei diesen Patienten wird die OP-Wunde in der Regel vorerst nicht verschlossen. Eventuelle Tumorreste in den Rändern oder der Basis können dann am Folgetag nachgeschnitten werden. Der Wundverschluss erfolgt meist erst nach dem Erreichen von Tumorfreiheit.

Normalerweise beträgt die Eindringgeschwindigkeit des Formalins in das Gewebe 1mm/h. Die Proben müssen deshalb möglichst dünn zugeschnitten werden, eine Dicke von 2 mm ist ideal. Das Gewebe wird direkt im OP vom Operateur zugeschnitten und in blauen Kassetten in 4-5%iges Formalin gelegt. Im Gewebeprozessor erfolgt dann die Fixierung der Proben in je 2x 60 Minuten 4,5% Formalin.

Nur bereits zugeschnittenes Gewebe oder kleine, dünne Proben von Horizontalexzisionen können direkt in die Schnellfixierung gegeben werden.

Bei MM können nach der Schnellfixierung morphologische Schäden auftreten, so dass der Tumor dementsprechend möglicherweise nur noch erschwert beurteilt werden kann. Eine Schnellfixierung ist aus diesem Grund bei MM nicht angezeigt. Eine Ausnahme ist die Lentigo maligna, bei der eine Schnellfixierung auf die morphologische Beurteilbarkeit keinen negativen Einfluss hat.

2.3.4 Herstellung von Paraffinblöcken

Die Herstellung der Paraffinblöcke ist eine histologische Technik, bei der zuvor eingebettete Gewebeprobe so aufbereitet werden, dass vom gekühlten Paraffinblock dünne Gewebeschnitte zur Diagnosefindung oder für Forschungszwecke gemacht werden können. Die Paraffinblöcke sind eine optimale Aufbewahrungsmöglichkeit von Gewebeprobe, da hieraus jederzeit neue Paraffinschnitte hergestellt werden können. Das paraffindurchdrungene Gewebe wird bei -20 Grad C so fest, dass es möglich ist bis zu 2 µm dünne Schnitte an einem Mikrotom herzustellen.

Die Probeneinbettkassetten werden bei der Probenvorbereitung aus dem Einbettautomat entnommen und bei circa 60° Grad im Wärmeschrank warmgehalten.

Die Paraffinkammer der Ausgießstation bleibt rund um die Uhr eingeschaltet. Somit wird das Wachs bei 60° - 63° Grad ständig erwärmt, bleibt flüssig und ist damit immer ausgießbereit.

Die Probenkassetten werden aus flüssigem Paraffin oder aus dem 60° Wärmeschrank entnommen und in die Wärmekammer der Ausgießstation gelegt. Dann werden die Gewebeprobe in Metallformen mit flüssigem Paraffin (60° Grad) ausgegossen.

Grundsätzlich wird die Schnittführung durch auffällige Bereiche gelegt. Diese können farblich verändert sein oder fallen beispielsweise durch Knötchen oder ein verändertes Relief auf. Außerdem muss der Schnitt so gelegt werden, dass man erkennen kann, ob eine Gewebeentnahme im Gesunden oder eventuell randständig entnommen wurde.

Gewebe das mit einem Faden, Einschnitt oder Farbe markiert ist, wird so ausgegossen, dass die Markierung auf dem Block, auf den nachfolgenden Paraffinschnitten und der Skizze immer nachvollziehbar bleibt.

Gewebeteile in Kassetten aus dem OP werden so ausgegossen, wie sie in der Kassette mit Filterpapier fixiert sind. Proben die nicht mit Filterpapier fixiert sind werden wie normale Proben behandelt.

Beim Ausgießen wird der Boden des Metallförmchen mit flüssigem Paraffin bedeckt. Die Probenausrichtung in der Metallform erfolgt so, dass die Epidermis senkrecht zur Schneiderichtung verläuft.

Die Gewebeprobe wird mit Hilfe einer Pinzette über dem *Coldspot* möglichst plan fixiert. Eine beschriftete Plastikkassette ohne Deckel wird daraufhin auf die Metallkassette gelegt und mit Paraffin vollständig befüllt. Die Einbettkassette muss während des Gießvorganges konstant erwärmt werden, da es sonst zu Löcher im Paraffinblock kommen kann, da das flüssige Paraffin gleich an der Oberfläche fest wird und nicht genügend Paraffin nach unten in die Metallform gelangt.

Die Kassette wird dann zum abkühlen auf die Kühlplatte gelegt und bei mindestens -10° Grad tief gefroren.

2.3.5 Die Herstellung von Paraffinschnitten

Von den tiefgekühlten Paraffinblöcken, die die Gewebestücke enthalten, werden $2\ \mu\text{m}$ (Immunhistologie) bis $5\ \mu\text{m}$ dicke Paraffinschnitte hergestellt. Die Schnitte werden in einem warmen Wasserbad auf Objektträger übertragen und somit dem Vorgang der Entparaffinierung zugänglich gemacht. Im Anschluss werden die Gewebeschnitte zur histopathologischen Begutachtung mit einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung gefärbt. Es stehen zur Diagnoseabsicherung außerdem Spezialfärbungen sowie eine immunhistologische Färbung zu Verfügung

Die Schnitte können sowohl mit dem Schlittenmikrotom als auch mit dem Rotationsmikrotom angefertigt werden.

Beim Schlittenmikrotom wird das Messer waagrecht über den eingespannten Block geführt. Die tiefgekühlten Paraffinblöcke werden in die dafür vorgesehene Halterung eingespannt.

Die gewünschte Schnittdicke wird am Mikrotom eingestellt. Der Block wird bis unmittelbar unter die Schnittebene des Messerblockes mit dem fest eingeschraubten Messers gebracht und ausgerichtet. Der Block wird getrimmt bis er angeschnitten ist. Dazu wird der Vorschub von Hand vorangetrieben. Dann beginnt man vorsichtig die gewünschten Schnitte zu schneiden. Dabei wird der Messerblockhalter mit der Hand auf einem beweglichen Schlitten

horizontal über die Blockhalterung vor und zurück bewegt. Der Paraffinblock wird durch eine Mechanik um die eingestellte Mikrometerzahl angehoben. Der Schnitt schiebt sich dabei auf das Messer. Von dort wird er mit einem Pinsel abgehoben und mit einer vorsichtigen, streichenden Bewegung mit der glänzenden Seite nach unten auf die Wasseroberfläche eines kalten Wasserbades gelegt. Mit Hilfe des Pinsels werden die Schnitte positioniert und können noch von eventuellen Falten befreit werden. Dann werden die Schnitte auf saubere und fettfreie Objektträger aufgezogen. Dazu werden diese so tief und schräg in das Wasserbad gehalten, dass die Schnitte an der gewünschten Stelle aufgezogen werden können. Zum Glätten der Schnitte werden anschließend die Objektträger schräg in ein warmes Wasserbad gehalten. Je nach Gewebearart werden die ersten Schnitte bereits aufgezogen oder man nimmt die Schnitte, wenn das Gewebe vollständig angeschnitten ist.

In der Regel werden 2 Objektträger geschnitten. Auf dem ersten Objektträger werden die ersten Schnitte in Serie aufgezogen. Anschließend werden je nach Gewebegröße oder Dicke mehrere Stufen verworfen und dann ein zweiter gekennzeichnete Objektträger mit Serienschnitten aufgezogen. Ist die Probe auf dem Paraffinblock dann immer noch nicht komplett angeschnitten, sind eventuell mehrere Objektträger nötig. Jeder Objektträger mit einer Stufe tiefer wird mit einem zusätzlichen x gekennzeichnet.

Ausnahme ist hier die Basis. Von ihr werden bereits immer die ersten Schnitte aufgezogen (tumorferne Seite) wichtig.

Beim Rotationmikrotom wird der Block senkrecht zum Messer bewegt. Im Gegensatz zum Schlittenmikrotom bewegt sich hier der Probenblock, mittels Rotation, vertikal über das feststehende Messer. Der Transport der Blockhalterung erfolgt je nach Ausstattung des Mikrotoms manuell über eine Kurbel oder über einen motorischen Antrieb.

Eine langsame, gleichförmige Schneidebewegung liefert bei beiden Mikrotomen die besten Ergebnisse bei nur minimalster Gewebestauchung.

2.3.6 Entparaffinierung und Gewebevorbehandlung

Ziel der Entparaffinierung der zuvor hergestellten Paraffingewebeschnitten ist die Vorbereitung für die HE - Färbung, Spezialfärbungen und die Weiterbehandlung in der Immunhistologie zur histopathologischen Begutachtung.

Das Paraffin wird in Xylol gelöst und ausgewaschen. Die Schnitte werden anschließend durch die absteigende Alkoholreihe in destilliertes Wasser überführt. Diese Entparaffinierung ist sowohl manuell als auch maschinell durchführbar. Das Paraffin wird aus den Gewebeschnitten entfernt.

Die Entparaffinierung ist aus Sicherheitsgründen unter dem Abzug durchführen. Die Schnitte werden zur Probenvorbereitung für 18 Minuten im 90 Grad Wärmeschrank oder über Nacht in den 55-60 Grad Wärmeschrank gestellt. Die manuelle Entparaffinierung erfolgt nach folgenden Schritten:

Reagenz	Zeitangabe
Xylol	2 Minuten
100% Alkohol	1 Minute
100% Alkohol	1 Minute
96% Alkohol	1 Minute
96% Alkohol	1 Minute
70% Alkohol	1 Minute
Aqua dest.	1 Minute
Aqua dest	Bis zur Weiterverarbeitung innerhalb von 8 Stunden

Alternativ kann die Entparaffinierung maschinell am Tissue Stainer TST44 erfolgen. Der Ablauf entspricht der manuellen Entparaffinierung.

Die Schnitte sind am Ende des Prozesses in Aqua dest. einzustellen.

Verschmutztes Xylol kann dazu führen, dass die Gewebeschnitte noch Paraffin enthalten. Paraffinreste auf den Schnittpräparaten führen im Färbemuster der nachfolgenden Färbereaktionen zu Störungen.

2.3.7 Die Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE)

Die 2-3 µm dicken Gewebeschnitte, die auf einen Objektträger aufgetragen werden zur Probenvorbereitung für 18 Minuten bei ca. 90 +/-3 Grad Celsius in den Wärmeschrank gestellt. Beim Färben im Färbeautomat werden die Schnitte zuerst im Gerät entparaffiniert und anschließend gleich gefärbt. Für die manuelle Methode können die Schnitte manuell oder im Färbeautomat entparaffiniert werden (s. Entparaffinierung).

Die Färbung ist aus Sicherheitsgründen unter dem Abzug durchführen.

Zur Herstellung der Eosin-Arbeitslösung werden 500 ml alkoholischer Eosin G – Lösung mit 1 ml Eissessig (Essigsäure 100 %) vermischt

Zur Herstellung von Essigwasser werden 1000 ml Aqua dest. mit 5,7 ml Eissessig (Essigsäure 100 %) vermischt.

Die Durchführung erfolgt demnach nach folgenden Schritten:

Hämatoxylin n. Gill	5 Minuten
Aqua dest.	15 Sekunden
Essigwasser	1 Minute
Leitungswasser warm	2 Minuten
Leitungswasser warm	4 Minuten
80 % Alkohol	15 Sekunden
Eosin – Gebrauchslösung	1 Minute
80 % Alkohol	15 Sekunden
96 % Alkohol	15 Sekunden
96 % Alkohol	15 Sekunden
100 % Alkohol	15 Sekunden
100 % Alkohol	15 Sekunden
Xylol	15 Sekunden
Xylol	15 Sekunden
Xylol	15 Sekunden – Schnitte mit Pertex eindecken.

Bei Überfärbung mit Eosin kann man die Schnitte mit 80 % Alkohol erneut differenzieren.

In dieser Arbeit wurden die 121 von uns untersuchten Präparate allesamt in HE Färbung angefertigt.

2.3.8 Immunhistochemie

Im histopathologischen Labor der Hautklinik Tübingen werden die immunhistochemischen Färbungen mit dem Gerät Bond Max von Leica Biosystems gefertigt.

Die 2-3 µm dicken Paraffinschnitte sollten vor der Durchführung bei ca. 55°C mindestens 5 Stunden trocknen gelassen werden.

Die Antikörper werden mit Verdünnungsmedium verdünnt. Im Verdünnungsmedium sind diese mindestens 2 – 3 Monate haltbar. Waschpuffer (1 : 10) verdünnt, 100 % iger Alkohol, Vorbehandlungspuffer ER1 und ER2, so wie die Entparaffinierungslösung Dewax müssen beim Bond Max mindestens bis zur Hälfte im Vorratsbehälter gefüllt sein.

Die Objektträger werden zur Immunhistochemie in das Gerät hinzugefügt. Der Vorgang wird maschinell gestartet.

Nach Beendigung des Programms werden die Präparate im Ständer gesammelt.

Die Präparate werden im Anschluss in warmen fließenden Leitungswasser 10 Minuten lang gebläut und hinterher in Aqua destilatum für 5 Minuten gespült.

Demnach werden sie schnell durch die aufsteigende Alkoholreihe je 3-4x getaucht : 2 x 70 %, 2 x 96 %, 2 x 100 % Alkohol.

Abschließend erfolgt die Lösung in Xylol 3 x 1 Minute.

2.4 Patientenkollektiv

Die Daten dieser Studie stammen aus einem Patientenkollektiv, bei dem sich vom Jahr 2005 bis zum Jahr 2015 in der Hautklinik der Eberhard-Karls Universität Tübingen folgende Diagnosen histologisch sichern ließen:

1. Frühe Lentigo maligna
2. Etablierte Lentigo maligna
3. Compound-Nävi
4. Tumorfremie Schnittrandkontrolle eines Basalzellkarzinoms

Das Hauptkriterium für die Vorauswahl der Patienten war außer einer der o.g. histologischen Diagnosen, das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose. Dies wurde bei > 45 Jahren festgelegt, da hier eine hinreichende UV-Einwirkungszeit an der Haut gewährleistet sein konnte. Außerdem sollten die Läsionen im Bereich des Kopfes oder in extrafazialen lichtexponierten Arealen lokalisiert sein, da hier die lebenslange Lokalisations-abhängige Exposition zum UV-Licht als ausreichend angesehen werden konnte. Trotz der sorgfältigen Vorauswahl nach dem Kriterium des Alters, kam in der Studie das Präparat eines 5 jährigen Jungen vor, bei dem ein Compound-Nävus diagnostiziert wurde. Dieses wurde im Nachhinein nicht aus der Studie ausgeschlossen, da es nur ein einziges Präparat war, in dem zudem keine Riesenzellen gefunden wurden.

Insgesamt wurden 35 Präparate einer etablierten Lentigo maligna (LM), 33 Präparate einer frühen Lentigo maligna (FLM), 32 Präparate eines Compound-Nävus (CN) und 30 Präparate tumorfreier Basalzellkarzinom-Rändern (BZK-R) vorausgewählt. Letztere dienten als Kontrolle.

Nach Ausschluss einiger Präparate (s. Ergebnisse) wurden insgesamt 30 Präparate einer LM, 29 Präparate einer FLM, 30 Präparate eines CN und 30 Präparate tumorfreier BZK-R histologisch auf multinukleäre RZ untersucht.

2.5 Melan A Färbung bei früher Lentigo maligna und etablierter Lentigo maligna

Eine Melan A Färbung wurde bei FLM in 28 von 29 (96,5%) Präparaten durchgeführt, hingegen bei LM in 8 von 32 (25%) Präparaten durchgeführt.

2.6 Studiendesign

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive und pseudonymisierte

Analyse, in der histologische Präparate von Patienten untersucht wurden, bei denen in der Vergangenheit schon die Diagnose durch einen erfahrenen Dermatohistopathologen festgelegt wurde. Zur Unterscheidung der verschiedenen Präparate wurden die im Archiv gespeicherten pseudonymisierten Histologie-Nummern verwendet.

Es wurden aus dem Zentralarchiv des histopathologischen Labors der Hautklinik Tübingen alle histologischen Präparate herausgefiltert, in denen von 2005 bis 2015 folgende Diagnosen gesichert wurden:

1. Frühe Lentigo maligna (FLM)
2. Etablierte Lentigo maligna (LM)
3. Compound Nävus (CN)

Als Kontrolle wurden die Präparate aus dem Archiv herausgefiltert in denen im Rahmen der Randkontrolle in der 3D-Histologie tumorfreie Ränder bei BZK diagnostiziert wurden. Die in den Rändern des BZK befindliche Haut entspricht pathophysiologisch einer Haut mit einem chronischem Lichtschaden, da das BZK meist auf dem Boden einer langjährigen UV-Strahlung entsteht.

Aus der o.g. Vorauswahl wurden nach dem Zufallsprinzip bei der LM 35 Präparate, bei der FLM 33 Präparate, bei dem CN 32 Präparate und bei dem BZK 30 Präparate ausgewählt.

2.7 Ethik

Die Arbeit wurde im Rahmen des Anmeldeverfahrens der Dissertation von der Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen genehmigt.

2.8 Statistik

Die Erfassung der Daten erfolgte mittels Microsoft-Excel-Tabellen und der Statistik- Software JMP® (SAS). Zudem wurden die Konfidenzintervalle mit Hilfe der folgenden Website berechnet:

www.statpages.info/confint.html.

Die Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie und medizinische Statistik der Universität Tübingen.

Es wurden folgende statistischen Verfahren angewandt:

Für unabhängige Paare bei nominal skalierten Werten wurden die jeweiligen Häufigkeiten ermittelt, diese in einer Kontingenztabelle angeordnet und mittels Chi²-Test oder Fisher´s exakter Test auf Signifikanz getestet.

Die graphische Darstellung erfolgte in Form von Torten-Diagrammen, Mosaik-Diagrammen und Kontingenztabellen.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit eingesetzten statistischen Methoden werden im folgenden Abschnitt kurz umrissen.

2.8.1 Kreuztabellen

In Kreuztabellen werden die absoluten und relativen (Prozent) Häufigkeiten von bestimmten Merkmalsausprägungen angeordnet. Die von Kreuztabellen angegebenen Werte sind rein beschreibend.

2.8.2 Chi²-Test

Mittels Chi²-Test nach Pearson wurde geprüft ob zwei Merkmale stochastisch unabhängig sind bzw. sich signifikant unterscheiden.

Der Test arbeitet unter der Nullhypothese der Gleichheit der Häufigkeitsverteilungen eines Merkmals. Er wurde angewendet, um bei den

Häufigkeitsverteilungen von Kontingenztabelle mit mehr als vier Zellen die Signifikanz zu berechnen.

2.8.3 Fisher-Test

Der Fisher-Test (exakter Test nach Fisher) wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendet, um mittels Vier-Felder Tafel die Häufigkeitsverteilungen von Kontingenztabelle mit genau vier Zellen bei einer geringen Fallzahl pro Feld (<5) auf Signifikanz zu testen. Der Fisher-Test stellt keine Voraussetzungen an den Stichprobenumfang und liefert somit auch bei einer geringen Menge an Beobachtungen zuverlässige Ergebnisse.

2.8.4 Konfidenzintervalle (KI)

Beim Ermitteln von statistischen Parametern analysiert man häufig eine Stichprobe und nur selten die Grundgesamtheit, daher kann man bei der Messung mit Ungenauigkeiten rechnen. KI definieren einen Bereich in dem sich der „wahre“ Wert des Parameters mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (meist 95 %) befindet.

Die Berechnung von KI erfolgt über den Standardfehler. Dieser entspricht einem Maß für den Messfehler zwischen der Stichprobe und der Grundgesamtheit. Der Standardfehler ist der Quotient der Standardabweichung und der Wurzel der Stichprobengröße, daher gilt: Je größer die Stichprobe, desto kleiner wird das Konfidenzintervall und je kleiner die Stichprobe umso größer wird das Konfidenzintervall.

Unabhängig von der Breite des KI, ist der berechnete Punktschätzer der annehmbarste Wert für die Annäherung an den „wahren“ Wert der Grundgesamtheit [92].

2.8.5 Odds-Ratio

Das Odds Ratio (OR) ist in der deskriptiven Statistik ein gängiges Maß der Effektstärke, und wird angewendet, um die Stärke eines Zusammenhangs zu quantifizieren. Es wird durch das OR eine Aussage darüber getroffen, inwiefern die Anwesenheit bzw. Nicht-Anwesenheit eines Merkmals A mit dem Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein eines weiteren Merkmals B zusammenhängt. Merkmal A wäre in unserer Arbeit die Diagnose und Merkmal B das Vorhandensein von Riesenzellen.

Es wird ein Verhältnis zwischen den Merkmalen gebildet, welches die Stärke der Assoziation zwischen Merkmal A und Merkmal B quantitativ beschreibt. Dieses Verhältnis ist das OR.

Wenn das OR größer als 1 ist, ist davon auszugehen, dass es eine Assoziation zwischen den beiden Merkmalen A und B gibt, und zwar in dem Sinne, dass das Vorhandensein von Merkmal A (Diagnose X) die Wahrscheinlichkeit für das Merkmal B erhöht (Vorhandensein von RZ).

Man kann mittels OR allerdings nicht auf die Kausalität schließen.

2.8.6 Varianzanalyse (ANOVA)

Für stetige Werte, z.B. das Alter, wurden Mittelwerte und Standardabweichungen ermittelt. Für die Altersverteilung innerhalb der unterschiedlichen Diagnosen erfolgte eine Varianzanalyse (ANOVA).

2.8.7 Signifikanztest

Alle Tests wurden bei einer Signifikanzgrenze von $p = 0,05$ durchgeführt. Der p-Wert gibt an, wie wahrscheinlich es ist, ein Stichprobenergebnis wie im untersuchten Fall zu beobachten, wenn die Nullhypothese wahr ist. Wenn der p-Wert ein vorher definiertes Signifikanzniveau unterschritten wurde, wurde im Folgenden die Nullhypothese (stochastische Unabhängigkeit für den Chi²-Unabhängigkeitstest nach Pearson) verworfen.

Wahrscheinlichkeiten mit $p < 0,05$ wurden als signifikant bezeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Verteilung der Diagnosen im Patientengut

Wie im Methodenteil schon beschrieben wurden aus der o.g. Vorauswahl nach dem Zufallsprinzip bei der etablierten Lentigo maligna (LM) 35 Präparate, bei der frühen Lentigo maligna (FLM) 33 Präparate, bei dem Compound-Nävus (CN) 32 Präparate und bei den tumorfreien Basalzellkarzinom-Rändern (BZK-R) 30 Präparate ausgewählt. Letztere dienten als Kontrolle.

Während der histologischen Untersuchung der Präparate bei der LM wurden 3 Präparate aus der Studie ausgeschlossen, da sich die Diagnose der LM bei unserer histologischen Untersuchung nicht bestätigen ließ. Dies lag bei zwei Präparaten daran, dass die für die Studie angefertigten tieferen Schnitte kein repräsentatives Gewebe der Tumoren mehr enthielten. Bei einem Präparat war ursprünglich die Diagnose nicht eindeutig gewesen, wurde somit als Ausschlussdiagnose kodiert und lediglich in unserem Programm so aufgenommen und herausgefiltert.

Bei den FLM wurden 4 Präparate aus der Studie entfernt, da die Diagnose bei unserer Untersuchung nicht bestätigt werden konnte.

Das lag in einem Fall daran, dass hier Anteile eines Nävus mitgeschnitten wurden und in den für die Studie angefertigten Präparate nur diese sichtbar waren, allerdings keine LM Anteile.

In einem Fall war ursprünglich die Diagnose nicht eindeutig und wurde somit als Ausschlussdiagnose kodiert und lediglich in unserem Programm so aufgenommen und herausgefiltert.

In den restlichen zwei Fällen lag es daran, dass die für die Studie angefertigten tieferen Schnitte kein repräsentatives Gewebe der Tumoren mehr enthielten.

Bei den Präparaten, in denen in der Vergangenheit CN diagnostiziert wurden, konnten im Nachhinein einmal aus einem Präparat aus 2015 eine Lentigo solaris und einmal aus dem Jahr 2015 eine LM diagnostiziert werden, sodass diese Präparate auch aus der Studie ausgeschlossen wurden. Bei beiden

Fällen handelte es sich um ein Programmfehler, da bei den jeweiligen Patienten mehrere Diagnosen unter einer Histologie Nummer zusammengefasst waren und somit in unserer Vorauswahl mit dem entsprechenden Programm-Algorithmus herausgefiltert wurden. Insgesamt wurden somit 30 Präparate einer LM, 29 Präparate einer FLM, 30 Präparate eines CN und 30 Präparate tumorfreier BZK-R auf multinukleäre RZ untersucht.

Es ergab sich letztendlich eine ausgeglichene Verteilung der Diagnosen mit 24% FLM , 26,4% LM, 24,8% CN und 24,8% BZK Ränder (s. Abb. 2).

Alle 121 Präparate waren in HE gefärbt, 36 Präparate wurden in Melan-A angefertigt. Ein Präparat war in HMB45 vorhanden.

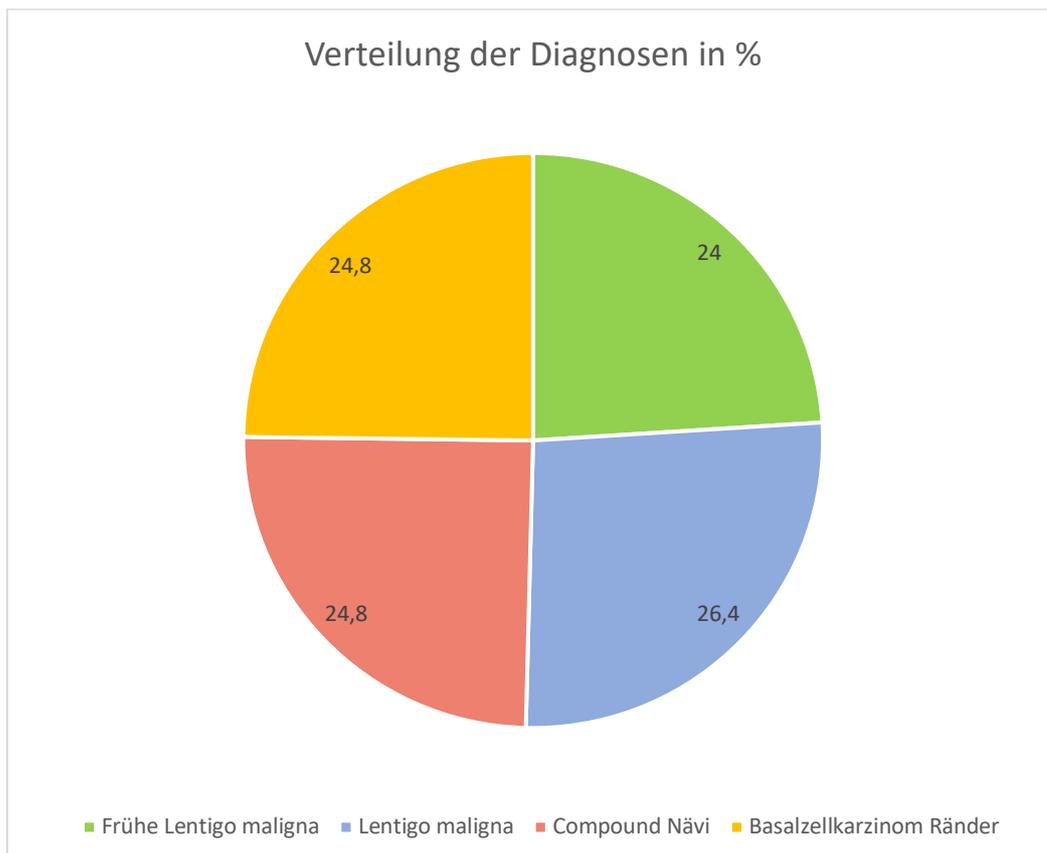


Abb. 2: Verteilung der Diagnosen im Patientengut in %

3.2 Geschlechterverteilung

Die Geschlechterverteilung zeigte sich im Gesamtkollektiv ausgeglichen. 64 (52,9%) Präparate gehörten zu männlichen Patienten und 57 (47,1%) zu weiblichen Patientinnen. In allen melanozytären Läsionen war die Verteilung ähnlich ausgeprägt.

3.2.1 Geschlechterverteilung auf Grund der Diagnose

Die Kontingenztabelle (Tab. 8) und das Mosaikdiagramm (Abb.3) zeigen die Geschlechterverteilung auf Grund der Diagnose auf. Es zeigt sich im Chi-Quadrat-Test bei einem p-Wert von 0,08 nach Pearson kein signifikanter Unterschied der Geschlechterverteilung zwischen den verschiedenen Diagnosen.

Häufigkeiten Zeile %	männlich	weiblich	Summe der Fälle
BZK-R	22 73%	8 27%	30
FLM	13 45%	16 55%	29
LM	15 47%	17 53%	32
CN	14 47%	16 53%	30
Summe	64	57	121

Tab. 8: Kontingenztabelle der Verteilung des Geschlechtes auf Grund der Diagnose

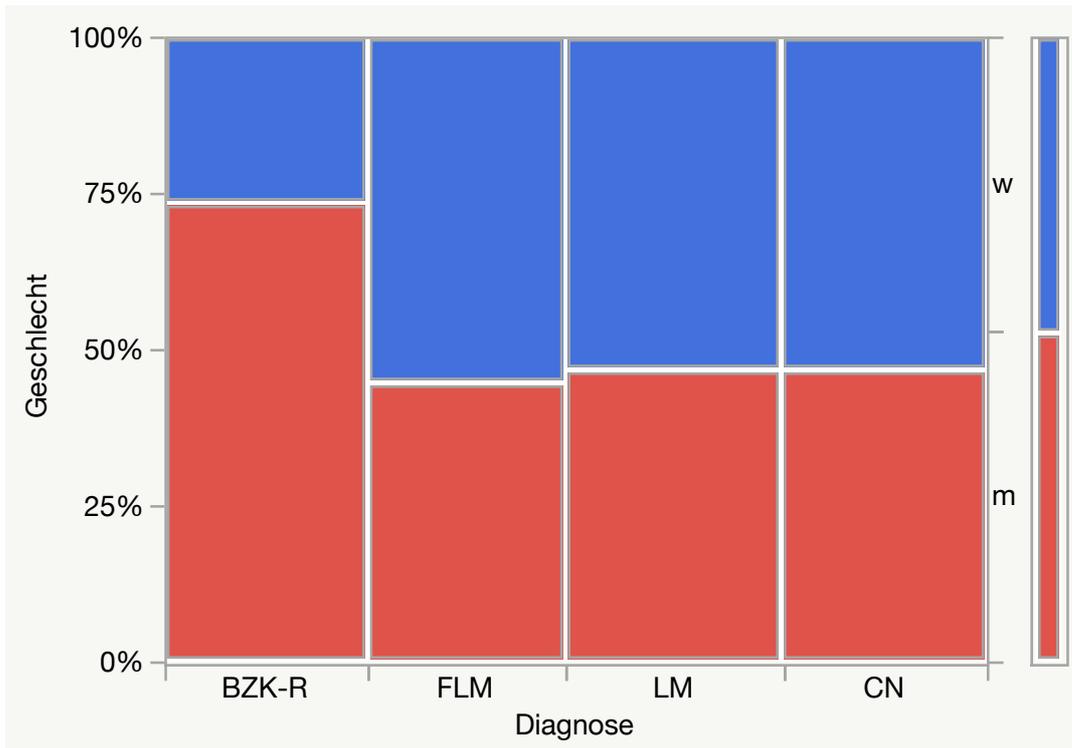


Abb. 3: Mosaikdiagramm zur Geschlechterverteilung auf Grund der Diagnose

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	6,958	0,0732
Pearson	6,720	0,0814

3.3 Altersverteilung

Die Altersverteilung innerhalb des gesamten Patientengutes wird in Abb.4 dargestellt. Der Mittelwert war bei 70,1 95% KI [67,8 ; 72,4] bei einer Std.-Abw. von 12,6. Der Median lag bei 72 (s. Abb.4, sowie Tab.9).

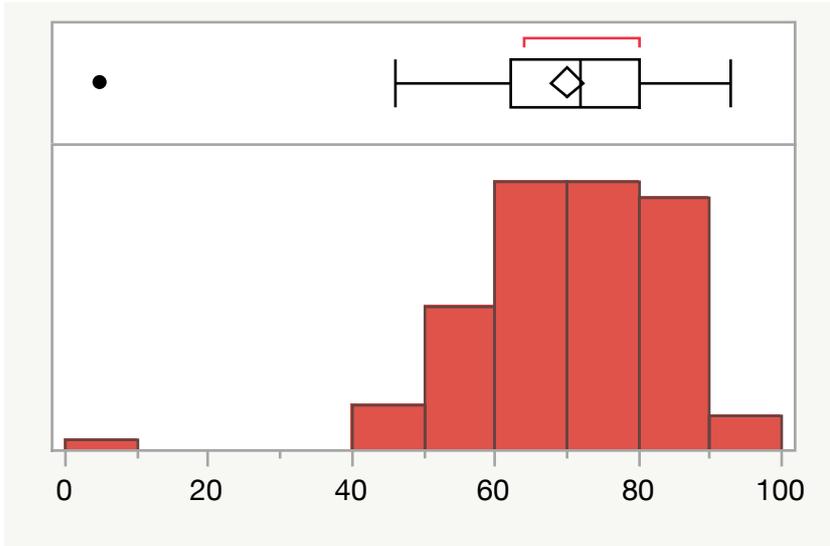


Abb. 4: Altersverteilung innerhalb des gesamten Patientenguts

Quantile

100,0%	Maximum	93
75,0%	Quartil	80
50,0%	Median	72
25,0%	Quartil	62
0,0%	Minimum	5

Tab. 9: Quantile (Altersverteilung)

Konfidenzintervalle

Parameter	Schätzer	Unteres KI	Oberes KI	1-Alpha
Mittelwert	70,13223	67,85275	72,41171	0,950
Std.-Abw.	12,66422	11,24463	14,49726	0,950

3.3.1 Varianzanalyse des Alters nach Diagnose

Es zeigten sich in der Varianzanalyse (ANOVA) bei einem p-Wert von <0.0001 signifikante Unterschiede in der Altersverteilung zwischen den unterschiedlichen Diagnosen, und zwar zwischen BZK-R bzw. LM (höheres mittleres Alter) und CN (geringeres Alter), sowie zwischen BZK-R bzw. LM (höheres mittleres Alter) und FLM (geringeres Alter) (s. Abb. 5, sowie Tab.10-12).

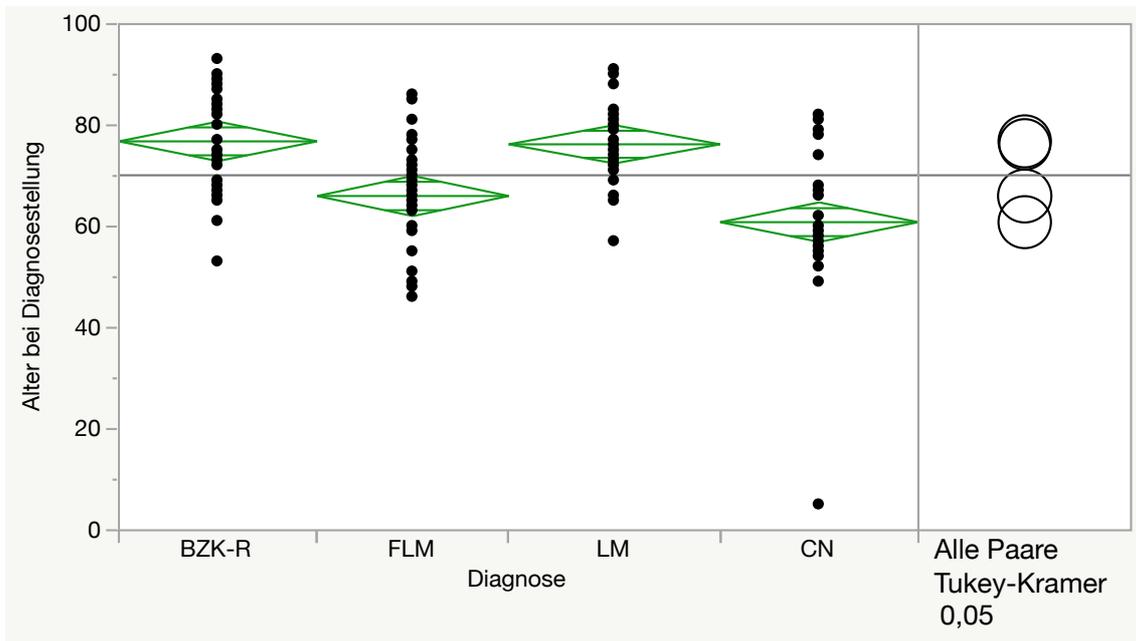


Abb. 5: ANOVA, Alter nach Diagnose

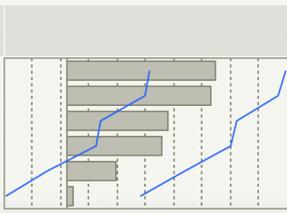
Quelle	Freiheitsgrade	Summe Quadrate	Mittlere Quadrate	F-Wert	Wahrsch. > F
Diagnose	3	5607,285	1869,10	16,0342	<,0001*
Fehler	117	13638,599	116,57		
K. Summe	120	19245,884			

Tab. 10: Varianzanalyse

Stufe	Anzahl	Mittelwert	Std.-Fehler	95% KI unten	95% KI oben
BZK-R	30	76,8333	1,9712	72,929	80,737
FLM	29	66,0345	2,0049	62,064	70,005
LM	32	76,2500	1,9086	72,470	80,030
CN	30	60,8667	1,9712	56,963	64,771

Tab. 11: Mittelwerte der einfaktoriellen ANOVA

Kategorie	- Kategorie	Differenz	Std.- Fehlerdiff.	KI unten	KI oben	p-Wert
BZK-R	CN	15,96667	2,787702	8,70095	23,23238	<,0001*
LM	CN	15,38333	2,743798	8,23205	22,53462	<,0001*
BZK-R	FLM	10,79885	2,811631	3,47077	18,12693	0,0011*
LM	FLM	10,21552	2,768107	3,00087	17,43016	0,0019*
FLM	CN	5,16782	2,811631	-2,16027	12,49590	0,2609
BZK-R	LM	0,58333	2,743798	-6,56795	7,73462	0,9966



Tab. 12: Liste der sortierten Differenzen

3.4 Lokalisationen der Läsionen

Es wurden in der Vorauswahl hauptsächlich Hautproben eingeschlossen, die aus dem Kopf-, Gesicht- oder Halsbereich exzidiert wurden. Zudem wurden einige Hautproben eingeschlossen, die aus normalerweise sonnenexponierten Arealen stammen, wie zum Beispiel dem Rücken, dem Arm, der Hand oder dem Unterschenkel.

86% (n=104) der Hautproben hatten ihren Ursprung im Gesichtsbereich: 29% (n=35) an der Wange, 14% (n=17) an der Nase, 12% (n=15) an der Stirn, 8% (n=10) an der Schläfe, 7% (n=9) am Ohr, 5% (n=6) am Kapillitium, 3% (n=4) am Kinn, 2% (n=3) präaurikulär, 2% (n=3) an der Augenregion, 2% (n=3) an der Oberlippe. 14% (n=17) der Hautproben hatten ihren Ursprung extrafazial: 8% (n=10) am Decolleté, 1% (n=1) am Unterschenkel, 2% (n=2) am Arm, 1% (n=1) an der Schulter, 1% (n=1) im Bereich der Hand und 1% (n=1) am Rücken (Tab.13).

Lokalisation	Häufigkeiten	Prozent
extrafazial	17	14%
fazial	104	86%
Summe	121	100%

Tab. 13: Verteilung der Lokalisationen nach fazial und extrafazial in %

3.4.1 Lokalisationen und Diagnosen

Die LM kam in unserer Kohorte nur im Gesicht vor (Abb. 6 und Tab.14). Die übrigen Diagnosen kamen zum Großteil aus der chronisch lichtbelasteten Gesichtshaut und nur zu einem kleinen Anteil vom übrigen Integument.

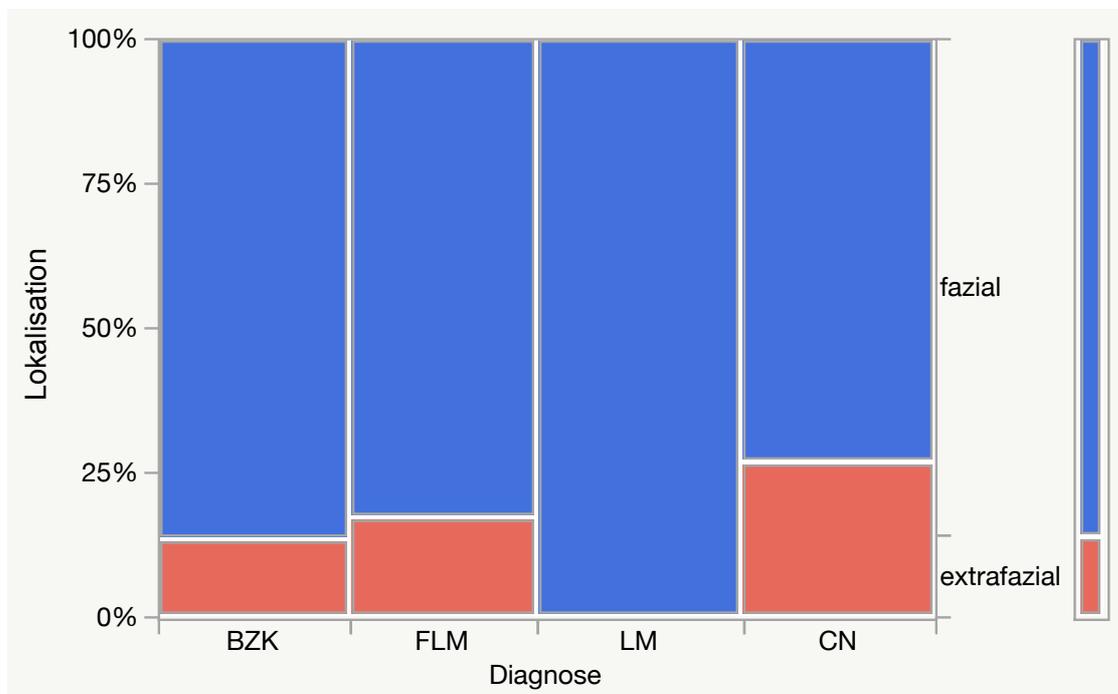


Abb. 6: Mosaikdiagramm der Lokalisation nach Diagnose

Häufigkeiten Zeile %	extrafazial	fazial	Summe
BZK-R	4 13,3%	26 86,7%	30
FLM	5 17,2%	24 82,8%	29
LM	0 0,0%	32 100,0%	32
CN	8 26,7%	22 73,3%	30
Summe	17	104	121

Tab. 14: Kontingenztabelle zur Lokalisation extrafazial vs. fazial in den verschiedenen Diagnosen

3.4.2 Vorkommen von Riesenzellen in früher Lentigo Maligna in extrafazialer und fazialer Lokalisation

Bei der Diagnose FLM zeigt sich beim Fishers exakter-Test (2-seitig) bei einem p-Wert von 1,0 kein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorkommens von RZ in der fazialen vs. extrafazialen Ursprungslokalisierung (s. Abb.7 und Tab.15-16).

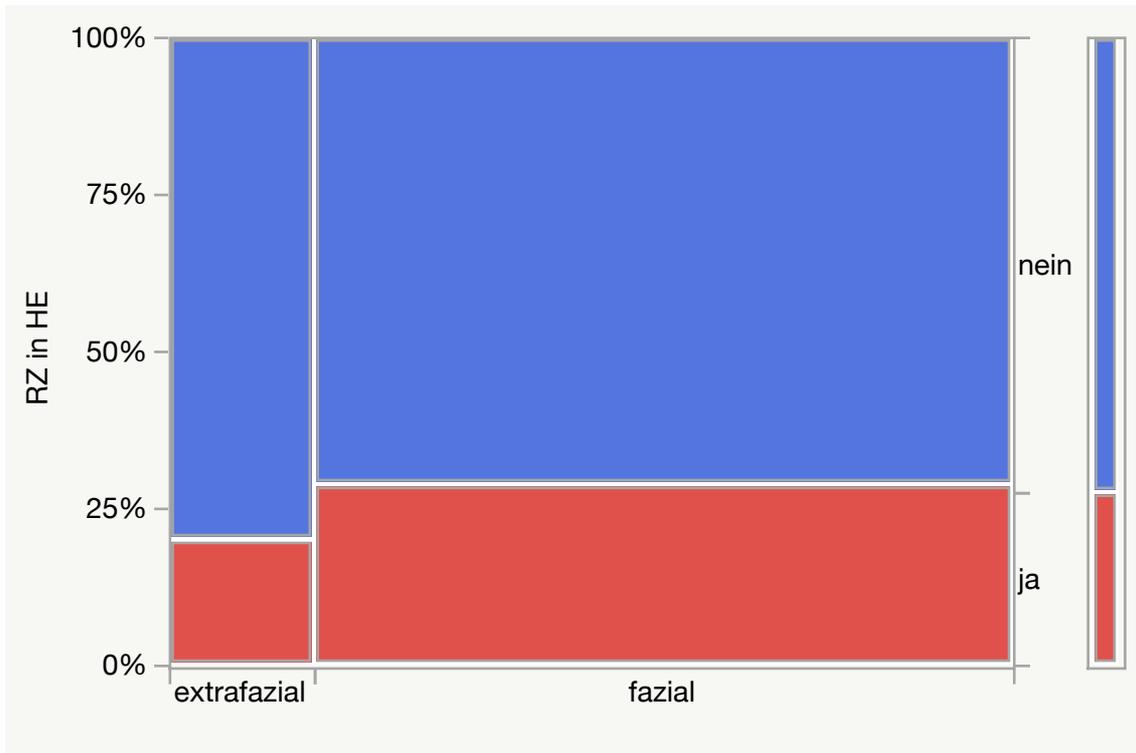


Abb. 7: Mosaikdiagramm zu der Verteilung von RZ nach extrafazialer vs. fazialer Lokalisation in FLM

Häufigkeiten der RZ In %	ja	nein	Summe
extrafazial	1 20,0%	4 80,0%	5
fazial	7 29,2%	17 70,8%	24
Summe	8	21	29

Tab. 15: Kontingenztabelle RZ in HE nach Lokalisation extrafazial vs. fazial in FLM

Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	0,5745	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Lokalisation fazial extrafazial=extrafazial als für fazial
Rechts	0,8286	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Lokalisation fazial extrafazial=fazial als für extrafazial
2-seitig	1,0000	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist unterschiedlich über Lokalisation fazial extrafazial

Tab.16: Fishers Exakter Test

3.4.3 Verteilung des Vorkommens von Riesenzellen in Compound-Nävi nach extrafazialer und fazialer Lokalisation

Bei der Diagnose CN zeigt sich im Fishers-exakter Test bei einem p-Wert von 0,56 kein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorkommens von RZ in der fazialen vs. extrafazialen Ursprungslokalisierung (s. Abb.8 und Tab.17-18).

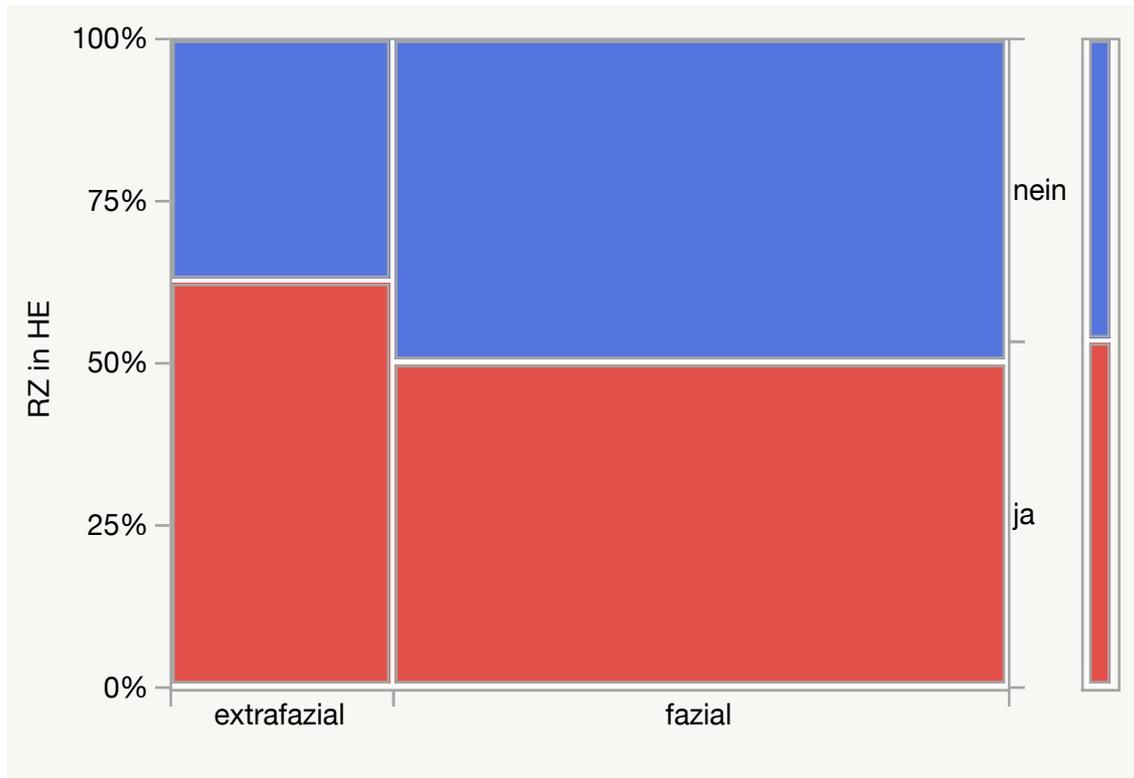


Abb.8 : Mosaikdiagramm zu der Verteilung von RZ nach extrafazialer vs. fazialer Lokalisation in CN

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
extrafazial	5 62,5%	3 37,5%	8
fazial	11 50%	11 50%	22
Summe	16	14	30

Tab.17: Kontingenztafel RZ in HE nach Lokalisation extrafazial vs. fazial in CN

Fishers exakter Test	Wahrsch. h.	Alternative Hypothese
Links	0,8208	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Lokalisation fazial extrafazial=extrafazial als für fazial
Rechts	0,3589	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Lokalisation fazial extrafazial=fazial als für extrafazial
2-seitig	0,5691	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist unterschiedlich über Lokalisation fazial extrafazial

Tab. 18: Fishers Exakter Test

3.4.4 Verteilung des Vorkommens von Riesenzellen in etablierter Lentigo maligna und Basalzellkarzinom-Rändern nach extrafazialer und fazialer Lokalisation

Eine Kontingenzanalyse mit Mosaikdiagramm erfolgt bei der Diagnose LM nicht, da keine extrafazialen Lokalisationen vorhanden waren.

Eine Kontingenzanalyse mit Mosaikdiagramm erfolgt bei der Diagnose BZK-R nicht, da keine RZ vorhanden waren.

3.5 Auswertung des Vorkommens von Riesenzellen in den verschiedenen Diagnosen

Es wurden die prozentualen Häufigkeiten und absolute Anzahl der Präparate mit einem Vorkommen von Riesenzellen miteinander verglichen.

3.5.1 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in allen Diagnosen

Multinukleäre RZ wurden in HE-Färbung bei FLM-Fällen in 27,6%(n=8), bei LM-Fällen in 34,4% (n=11) und bei CN-Fällen in 53,3% (n=16), nachgewiesen. In lichtgeschädigter Haut (BZK-Ränder) waren sie in 0% der Fälle sichtbar.

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von Riesenzellen in allen untersuchten Diagnosen analysiert, zeigt sich bei einem p-Wert nach Pearson von 0,0001 ein statistisch signifikanter Zusammenhang des Vorkommens von RZ in den unterschiedlichen Diagnosen bzw. die Verteilung des Vorkommens oder Nicht-Vorkommens der RZ stellte sich signifikant unterschiedlich dar (p (Pearson) = 0,0001) (s. Abb.9, sowie Tab.19-20). Die Ergebnisse beziehen sich auf die Präparate in HE-Färbung.

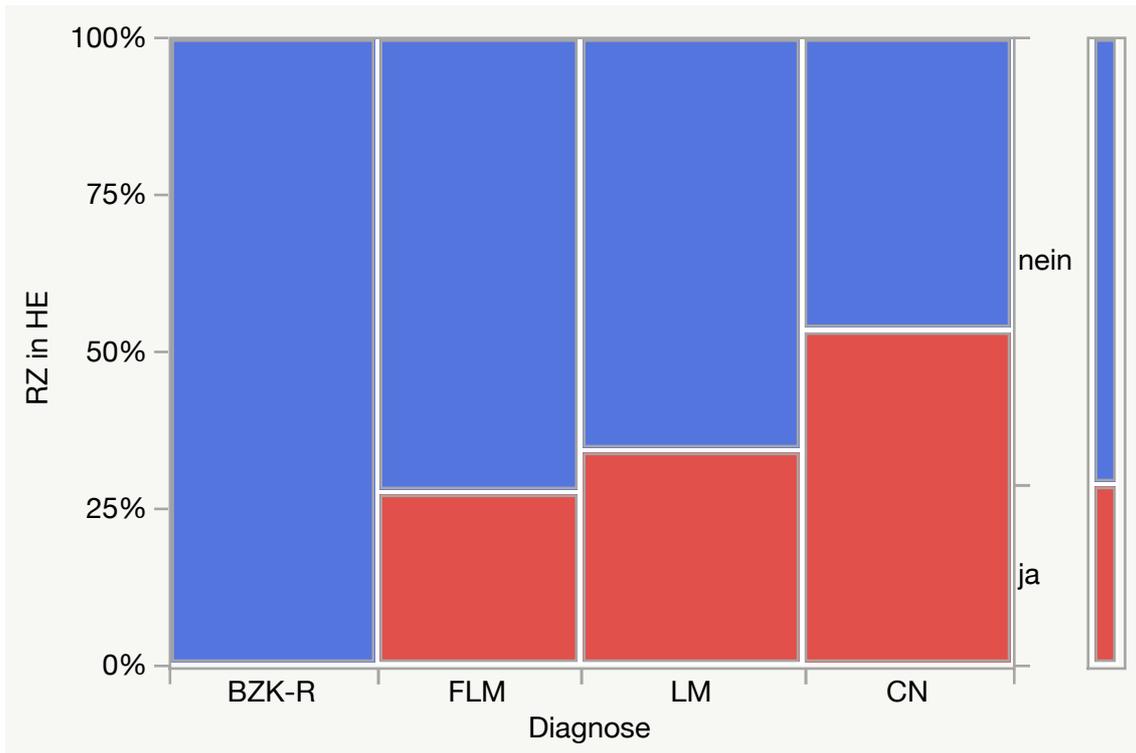


Abb.9: Mosaikdiagramm zum Vorkommen von Riesenzellen in Bezug auf die Diagnose

Häufigkeiten RZ in HE	ja	nein	Summe
Zeile %			
BZK-R	0 0%	30 100%	30
FLM	8 27,6%	21 72,4%	29
LM	11 34,4%	21 65,6%	32
CN	16 53,3%	14 46,7%	30
Summe	35	86	121

Tab.19: Kontingenztabelle zum Vorkommen von Riesenzellen in Bezug auf die Diagnose

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	28,758	<,0001*
Pearson	21,390	<,0001*

Tab.20 : Chi²- Test

3.5.2 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in melanozytären Läsionen (frühe Lentigo Maligna, etablierte Lentigo Maligna, Compound Nävus) in HE-Färbung

In den Präparaten in denen ein CN diagnostiziert wurde, waren bei 53,3% (n=16), 95% KI [34,33% ; 71,66%] der Präparate RZ sichtbar, unabhängig davon ob sie dermal oder junctional vorzufinden waren. Im Vergleich hierzu waren es bei der FLM 27,6% (n=8), und in der LM 34,4%(n=11) hier wurde allerdings nicht zwischen dermalen und junctionalen Riesenzellen unterschieden (s. Tab.21).

Diagnose	Anzahl der Präparate (N)	HE- Färbung	
		Anzahl der Präparate mit Riesenzellen	Anzahl der Präparate mit Riesenzellen in %
Frühe Lentigo maligna	29	8	27,6%
Lentigo maligna	32	11	34,4%
Compound Nävus	30	16	53,3%

Tab.21: Anzahl und % der Präparate mit RZ in FLM, LM und CN in HE - Färbung

Bezogen auf die dermale oder junctionale Lokalisation, waren in 43,3% (n=13) , 95% KI [25,46 ; 62,57%] der Fälle dermale RZ sichtbar. In 20% (n=6), 95% KI [7,7% ; 38,57%] der Fälle waren junctionale RZ sichtbar (s. Tab.22).

In 10% (n= 3) 95% KI [2,11%; 26,53%] der Fälle, waren sowohl dermale als auch junctionale RZ sichtbar.

Häufigkeiten RZ junktionale in CN	ja	nein	Summe
Zeile %			
	6 20%	24 80%	30 100%
Häufigkeiten RZ dermal in CN	ja	nein	
Zeile %			
	13 43,3%	17 56,7%	30 100%

Tab.22: Anzahl und % der Präparate mit RZ in CN mit Unterscheidung zwischen junktionalen und dermalen RZ in HE-Färbung

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM, LM und CN in HE-Färbung analysiert, stellen sich bei einem p-Wert nach Pearson von 0,10 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommens der RZ in den drei Gruppen nicht-signifikant dar (s. Tab.23-24).

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
FLM	8 27,6%	21 72,4%	29
LM	11 34,4%	21 65,6%	32
CN	16 53,3%	14 46,7%	30
Summe	35	56	91

Tab.23 : Kontingenztabelle zum Vorkommen von RZ in HE bei melanozytären Läsionen

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	4,462	0,1074
Pearson	4,478	0,1066

Tab.24: Chi²- Test

3.5.3 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in HE- oder Melan-A-Färbung bei früher Lentigo maligna, etablierter Lentigo Maligna und junktionalen Riesenzellen in Compound Nävi

In der Folgenden Analyse wurde die Verteilung der RZ folgendermaßen analysiert und verglichen: die RZ wurden als „vorhanden“ definiert wenn folgende Bedingungen erfüllt waren:

- in CN : wenn sie junktional zu sehen waren
- in FLM/LM: wenn sie in HE oder/und Melan A zu sehen waren
(Vereinigungsmenge)

Hinweis: Wie im Methodenteil erwähnt (s. Kapitel 2.5) wurden bei FLM deutlich mehr Präparate in Melan-A gefärbt, sodass folgende Ergebnisse nur der Vollständigkeit halber aufgeführt werden. Dadurch, dass es bei der FLM mehr Präparate in Melan-A gab, führt dies hier zu einer vermehrten *Gesamtanzahl* und zu einem erhöhten Prozentsatz an Präparaten, in denen RZ gefunden werden (s. auch Kapitel 4).

In der Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM, LM und CN nach den o.g. Kriterien analysiert, stellen sich bei einem p-Wert nach Pearson von 0,173 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den drei Gruppen nicht-signifikant dar (s. Abb.10, sowie Tab.25-26).

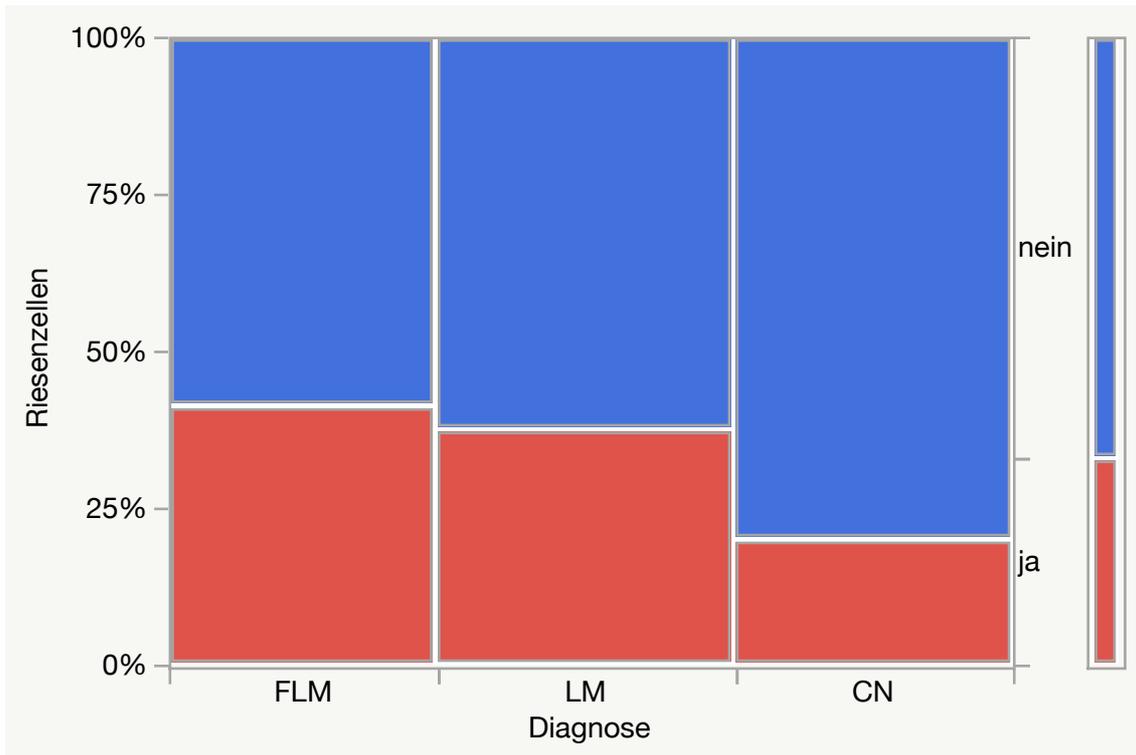


Abb. 10: Mosaikdiagramm zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in HE/Melan A und bei CN junktional

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
FLM	12 41,4%	17 58,6%	29
LM	12 37,5%	20 62,5%	32
CN	6 20,0%	24 80,0%	30
Summe	30	61	91

Tab.25 : Kontingenztabelle zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in HE/Melan A und bei CN junktional

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	3,678	0,1590
Pearson	3,509	0,1730

Tab.26: Chi²- Test

3.5.4 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in früher Lentigo maligna und etablierter Lentigo maligna in HE - Färbung

In den Präparaten in HE - Färbung in denen eine FLM diagnostiziert werden konnte, waren bei 27,6% (n=8), 95% KI [12,7% ; 47,2%] der Präparate RZ sichtbar.

In den Präparaten in HE - Färbung in denen eine LM diagnostiziert werden konnte, waren bei 34,4%(n=11), 95% KI[18,6% ; 53,2%] der Präparate RZ sichtbar.

Die Odds-Ratio beträgt 1,37, 95% KI [0,46 ; 4,10] (s. Tab.27).

Chancenverhältnis	Untere Grenze 95%	Obere Grenze 95%
1,375	0,460784	4,103059

Tab. 27: OR und KI

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM und LM analysiert, stellen sich im Chi²-Test bei einem p-Wert nach Pearson von 0,56 und beim Fishers exakter Test bei einem p-Wert von 0,59 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen nicht-signifikant dar (s. Tab.28-30).

Häufigkeiten von RZ in HE	ja	nein	Summe
Zeile %			
FLM	8 27,6%	21 72,4%	29
LM	11 34,4%	21 65,6%	32
Summe	19	42	61

Tab.28: Kontingenztafel zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in HE Färbung

N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
61	1	0,16403590	0,0043

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	0,328	0,5668
Pearson	0,327	0,5675

Tab.29: Chi²- Test

Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	0,8016	Wahrsch.(RZ in HE=1) ist größer für Diagnose=FLM als für LM
Rechts	0,3849	Wahrsch.(RZ in HE=1) ist größer für Diagnose=LM als für FLM
2-seitig	0,5933	Wahrsch.(RZ in HE=1) ist unterschiedlich über Diagnose

Tab.30: Fishers Exakter Test

3.5.5 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in früher Lentigo maligna und etablierter Lentigo maligna in Melan-A

Bei 96,5% (n=28) der Präparate in denen eine FLM diagnostiziert wurde, waren Melan A Färbungen vorhanden, hier waren in 35,7% (n=10), 95% KI [18,6%; 55,9%] der Präparate RZ sichtbar.

Bei 25% (n=8) der Präparate in denen eine LM diagnostiziert wurde, waren Melan A Färbungen vorhanden, hier waren in 62,5% (n=5), 95% KI [24,5%; 91,5%] der Präparate RZ sichtbar (s. Tab.31).

Diagnose	Gesamtanzahl Präparate (N)	Anzahl der Präparate in Melan A	Präparate in Melan A Färbung in %	Anzahl der Präparate in Melan A mit RZ	Präparate in Melan A mit RZ in %
FLM	29	28	96,5%	10	35,7%
LM	32	8	25%	5	62,5%

Tab.31: Anzahl und Prozentualer Anteil der Präparate in Melan A mit Angabe des %-Anteils der Präparate mit RZ in LM und FLM

Die Odds-Ratio beträgt 3, 95% KI [0,58 ; 15,25] (s.Tab.32).

Chancenverhältnis	Untere Grenze 95%	Obere Grenze 95%
3	0,589698	15,26205

Tab.32: OR und KI

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM und LM in Melan A analysiert, stellen sich im Fishers exakter Test bei einem p-Wert von 0,23 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen als nicht-signifikant dar (s. Tab.33-34, sowie Abb.11).

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
FLM	10 35,7%	18 64,3%	28
LM	5 62,5%	3 37,5%	8
Summe	15	21	36

Tab.33: Kontingenztafel zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in Melan A

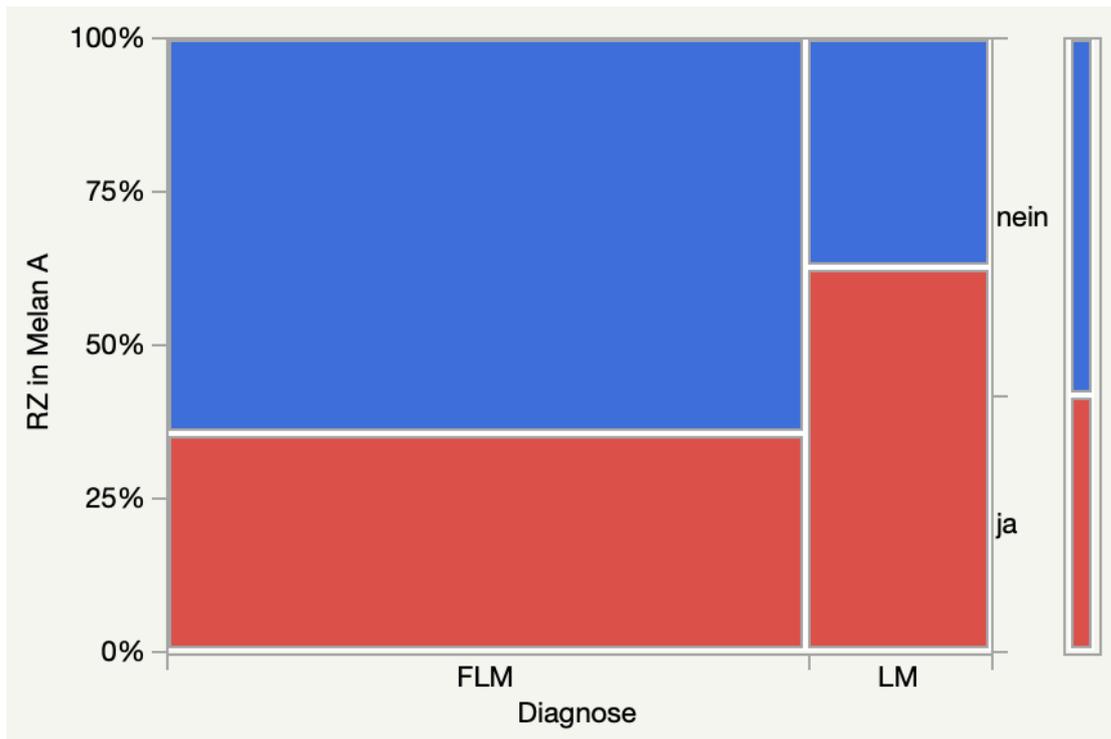


Abb. 11: Mosaikdiagramm zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in Melan A

N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
36	1	0,90926796	0,0372

Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	0,9606	Wahrsch.(RZ in Melan A=1) ist größer für Diagnose=FLM als für LM
Rechts	0,1714	Wahrsch.(RZ in Melan A=1) ist größer für Diagnose=LM als für FLM
2-seitig	0,2358	Wahrsch.(RZ in Melan A=1) ist unterschiedlich über Diagnose

Tab.34: Fishers Exakter Test

In der **Gesamtanzahl** der Präparate in denen eine FLM diagnostiziert werden konnte, waren in Melan A bezüglich der **Gesamtmenge** der Präparate (N=29) bei 34,4% (n=10) , 95% KI [17,9% ; 54,3%] der Präparate RZ sichtbar .

In der **Gesamtanzahl** der Präparate in denen eine etablierte LM diagnostiziert werden konnte, waren in Melan A bezüglich der **Gesamtmenge** der Präparate (N=32) bei 15,63% (n=5) , 95% KI [5,28% ; 32,79%] der Präparate RZ sichtbar. Man beachte hierbei wiederum die vermehrte Anzahl von Präparaten in Melan A Färbung bei FLM im Vergleich zu LM.

3.5.6 Vergleich der Prävalenz von Riesenzellen in früher Lentigo maligna und etablierter Lentigo maligna in HE- oder/und Melan-A

In der **Gesamtanzahl** der Präparate in denen eine FLM diagnostiziert werden konnte, waren in HE oder/und Melan A bezüglich der **Gesamtmenge** bei 41,4% (n=12) , 95% KI [23,5% ; 61,0%] der Präparate RZ sichtbar.

In der **Gesamtanzahl** der Präparate in denen eine LM diagnostiziert werden konnte, waren in HE oder/und Melan A bezüglich der **Gesamtmenge** bei 37,5% (n=12), 95% KI [21,1% ; 56,3%] der Präparate RZ sichtbar.

Die Odds-Ratio beträgt 1,17, 95% Konfidenzintervall [0,42 ; 3,29] (s.Tab.35).

Chancenverhältnis	Untere Grenze 95%	Obere Grenze 95%
1,176471	0,420542	3,291187

Tab.35: OR und KI

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM und LM in HE oder/und Melan A (Vereinigungsmenge) analysiert, stellen sich im Chi²-Test bei einem p-Wert nach Pearson von 0,75 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen als nicht-signifikant dar (s.Abb.12, sowie Tab.36-37).

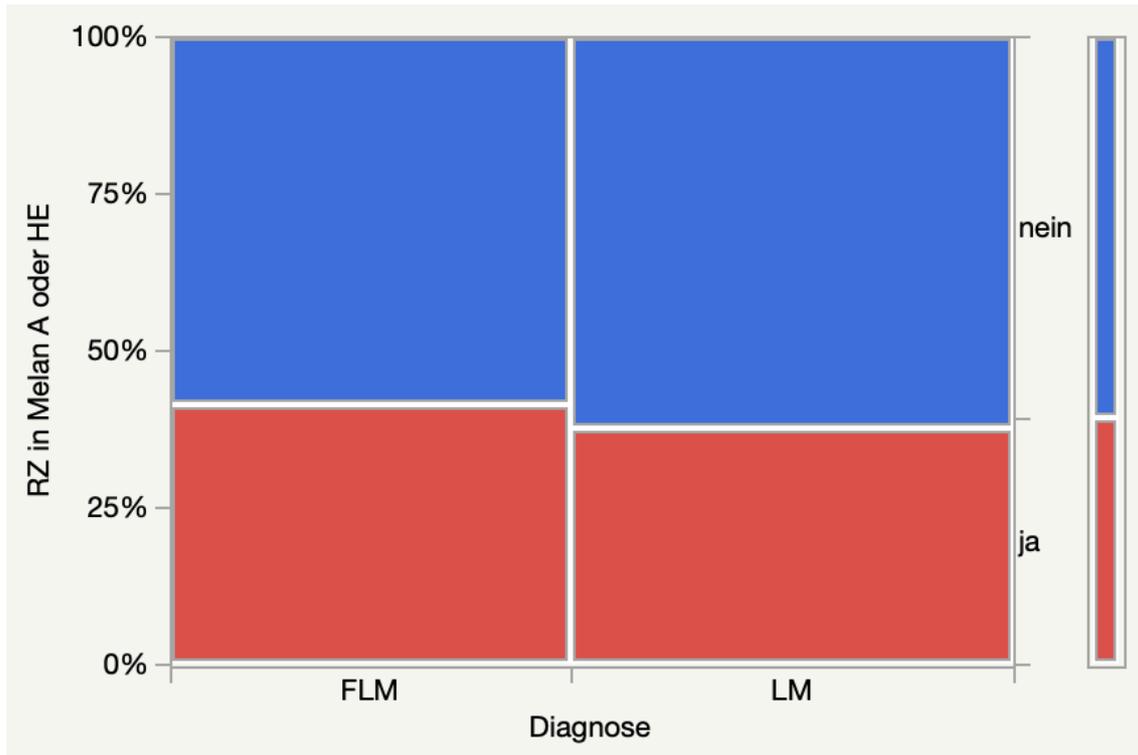


Abb.12: Mosaikdiagramm zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in HE oder/und Melan A

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
FLM	12 41,4%	17 58,6%	29
LM	12 37,5%	20 62,5%	32
Summe	24	37	61

Tab.36: Kontingenztabelle zum Vorkommen von RZ bei FLM und LM in HE oder Melan A

N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
61	1	0,04795497	0,0012

Test	Chi ²	Wahrsch. > Chi ²
Likelihood-Verhältnis	0,096	0,7568
Pearson	0,096	0,7568

Tab.37: Chi²-Test

3.5.7 Prävalenz von Riesenzellen in früher Lentigo maligna, Lentigo maligna und Compound Nävi im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung

Die folgende Tabelle (Tab.38) zeigt nochmals übersichtlich die Häufigkeit des Vorkommens von RZ in absoluten Zahlen und Prozent in den verschiedenen Diagnosen in HE-Färbung

Diagnose	Anzahl der Präparate (N)	Anzahl der Präparate mit RZ (n)	%-Anteil der Präparate mit RZ
BZK-R	30	0	0%
FLM	29	8	27,6%
LM	32	11	34,4%
CN	30	16	53,3%

Tab.38: Übersicht über Anzahl und %-Anteil der Präparate mit RZ in FLM, LM und CN im Vergleich zu BZK-R in HE - Färbung

In den Präparaten in BZK-R diagnostiziert wurden, waren in 0%(n=0) , 95% Konfidenzintervall [0% ; 11,6%] der Fälle RZ sichtbar.

3.5.7.1 Riesenzellen in früher Lentigo maligna im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in FLM und BZK-R in HE analysiert, stellen sich im Fishers exakter Test bei einem p-Wert von 0,0019 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen als signifikant dar (s. Tab.39-40).

Häufigkeiten	ja	nein	Summe
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
BZK-R	0 0,00	30 100,00	30 50,85
FLM	8 27,59	21 72,41	29 49,15
Summe	8	51	59

Tab.39 : Kontingenztabelle zum Vorkommen von RZ bei FLM und BZK-R in HE

N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
59	1	6,3349940	0,2705

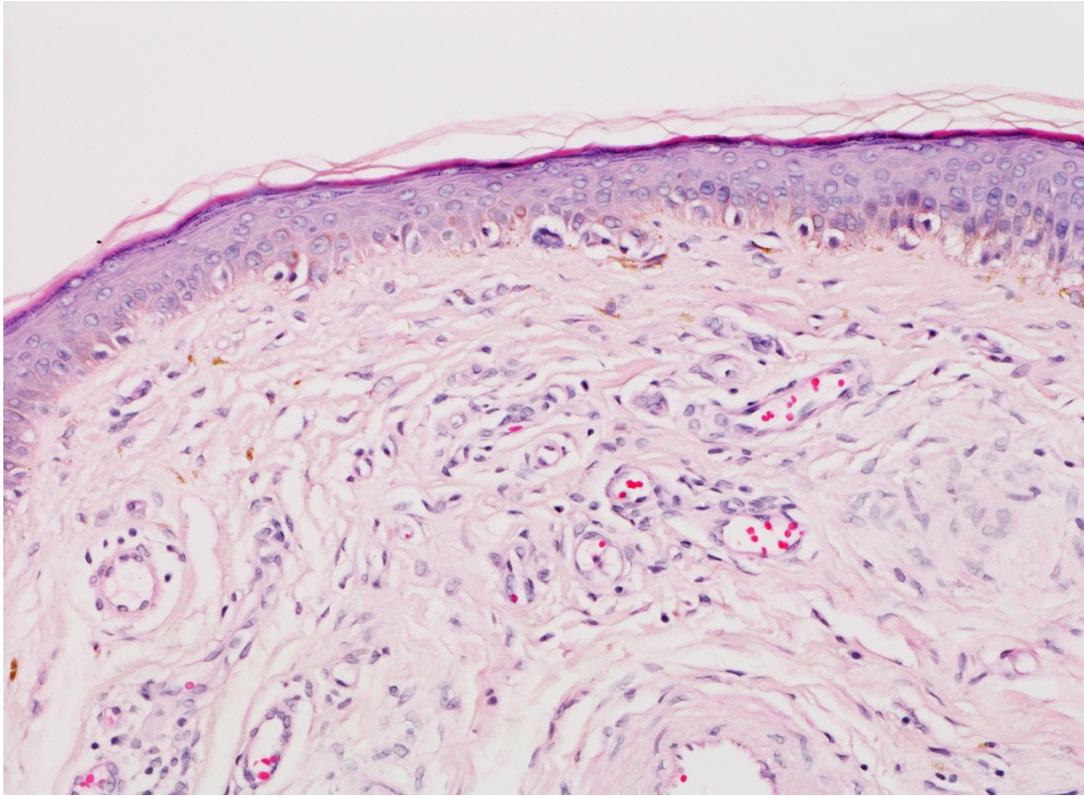
Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	0,0019*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=BZK-R als für FLM
Rechts	1,0000	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=FLM als für BZK-R
2-seitig	0,0019*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist unterschiedlich über Diagnose

Tab.40: Fishers Exakter Test

Das Präparat einer FLM bei einem 64-jährigen männlichen Patienten wird in Abb. 13 gezeigt. In diesem Präparat wurden mehrkernige melanozytäre RZ gefunden, die sowohl in HE-Färbung als auch in Melan-A sichtbar sind.

a) in HE b) in Melan A

a)



b)

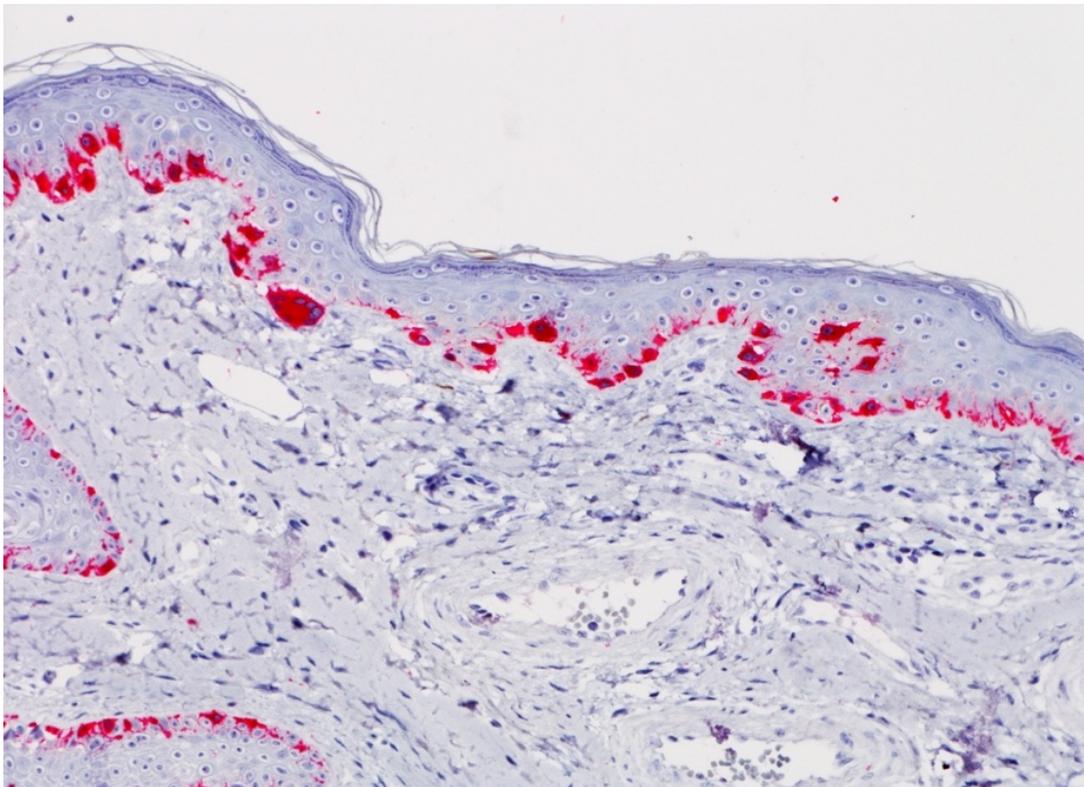


Abb. 13: FLM mit sichtbaren RZ in a) HE, b) Melan-A

3.5.7.2 Riesenzellen in etablierter Lentigo maligna im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in LM und BZK-R in HE analysiert, stellen sich im Fishers exakter Test bei einem p-Wert von 0,0004 die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen als signifikant dar (s. Tab.41-42).

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
BZK-R	0 0,0%	30 100,0%	30
LM	11 34,4%	21 65,6%	32
Summe	11	51	62

Tab.41: Kontingenztafel zum Vorkommen von RZ bei FLM und BZK-R in HE

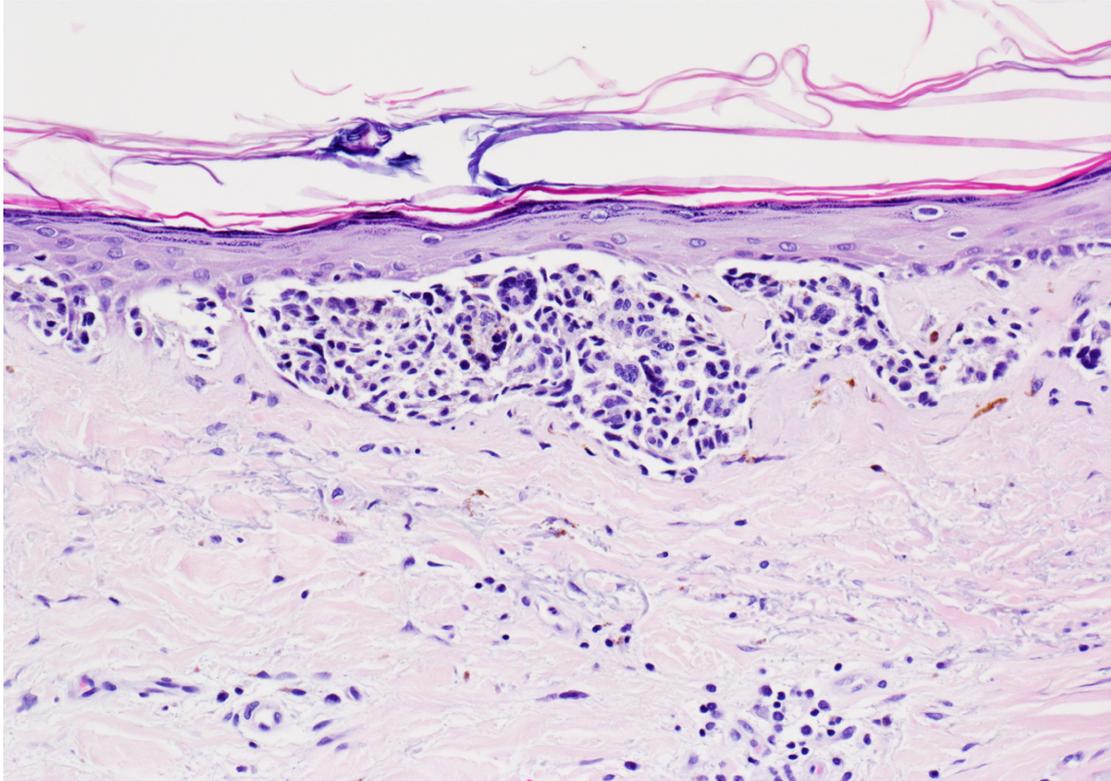
N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
62	1	8,3906469	0,2895

Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	0,0003*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=BZK-R als für LM
Rechts	1,0000	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=LM als für BZK-R
2-seitig	0,0004*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist unterschiedlich über Diagnose

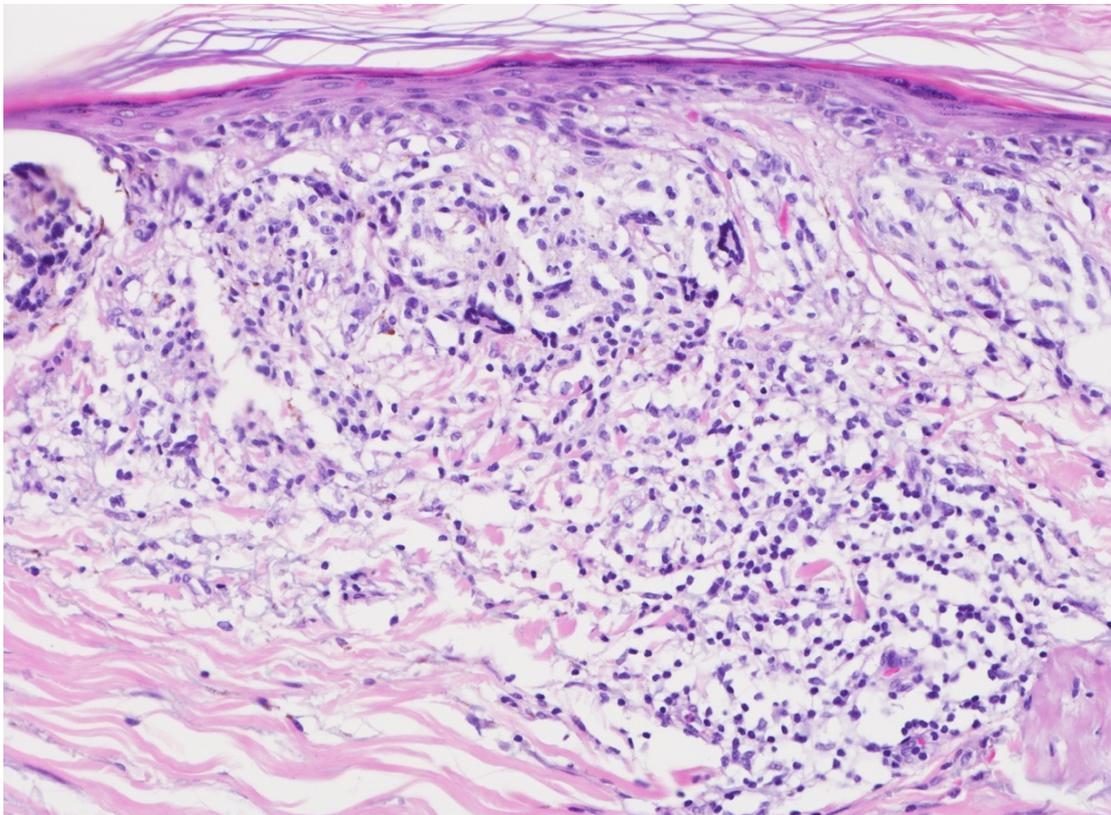
Tab.42: Fishers Exakter Test

Das Präparat einer LM bei einem 80-jährigen männlichen Patienten mit Lokalisation am Kopf wird in Abb. 14 a-d gezeigt. In diesem Präparat wurden mehrkernige melanozytäre RZ gefunden, die in HE-Färbung sichtbar sind. a-d) In unterschiedlichen Vergrößerungen.

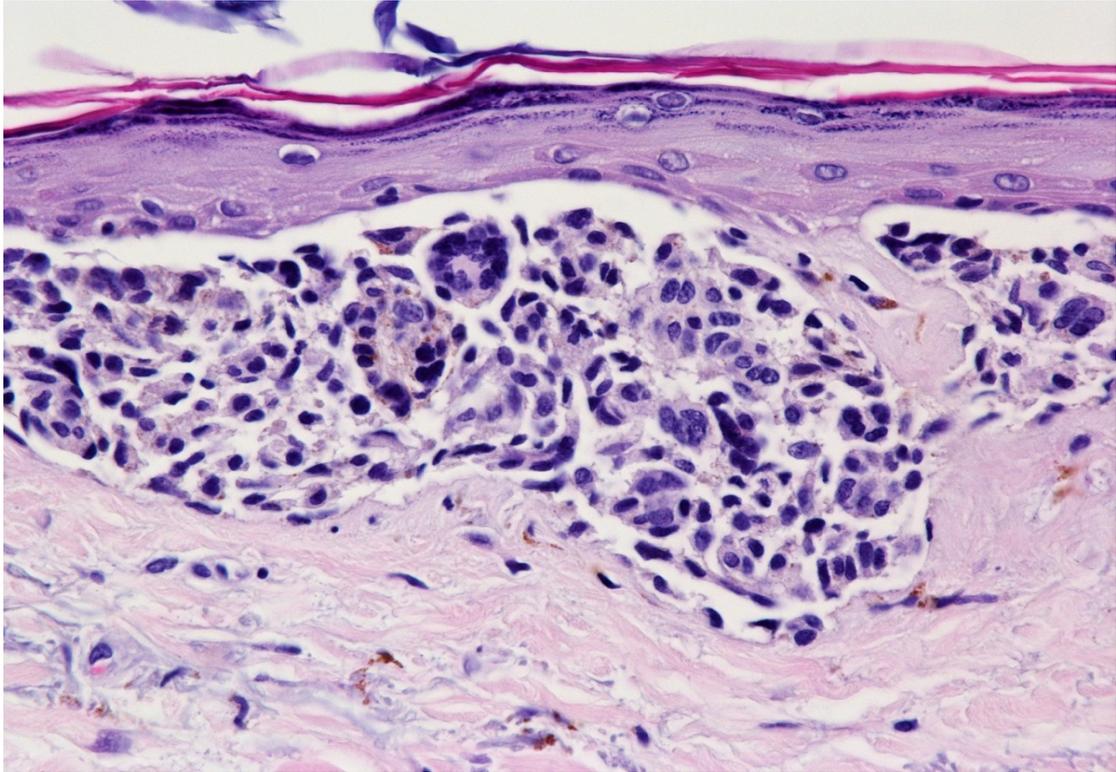
a)



b)



c)



d)

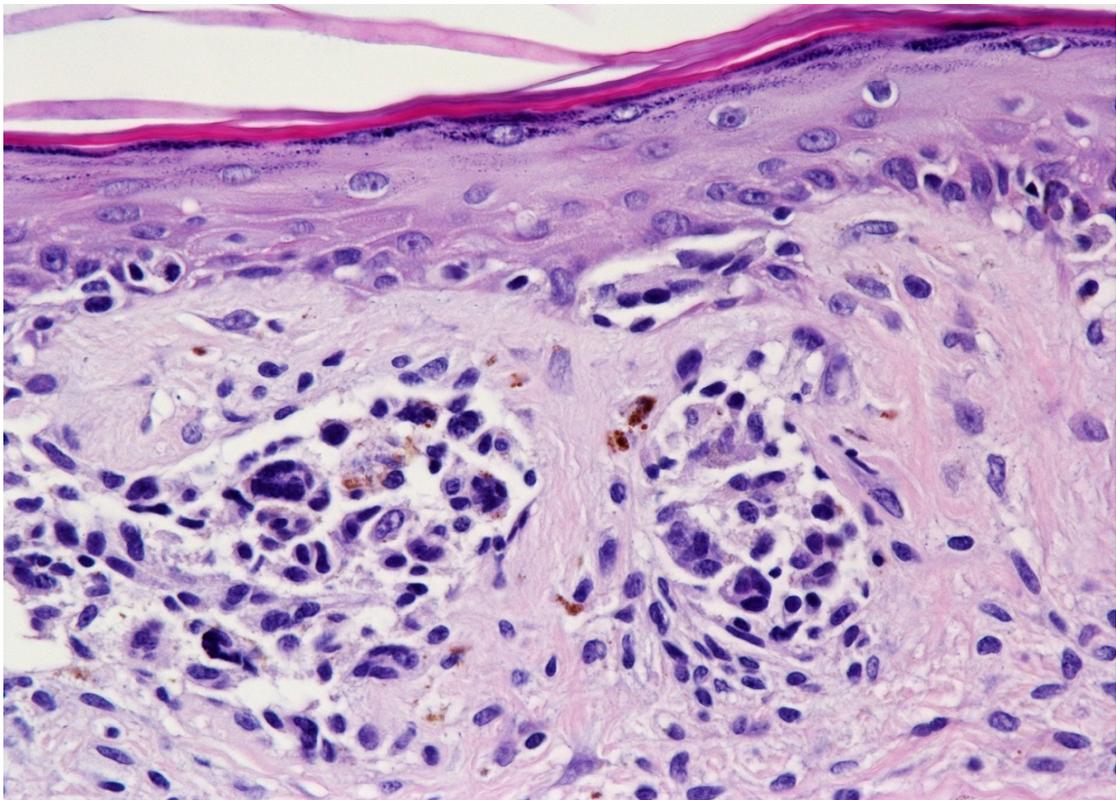


Abb.14: a-d) HE-Präparat einer LM mit sichtbaren RZ in unterschiedlichen Vergrößerungen

Das Präparat einer LM bei einer 76-jährigen Patientin mit Lokalisation am Ohr wird in Abb.15 gezeigt. In diesem Präparat wurden mehrkernige melanozytäre RZ gefunden, die in Melan-A sichtbar sind.

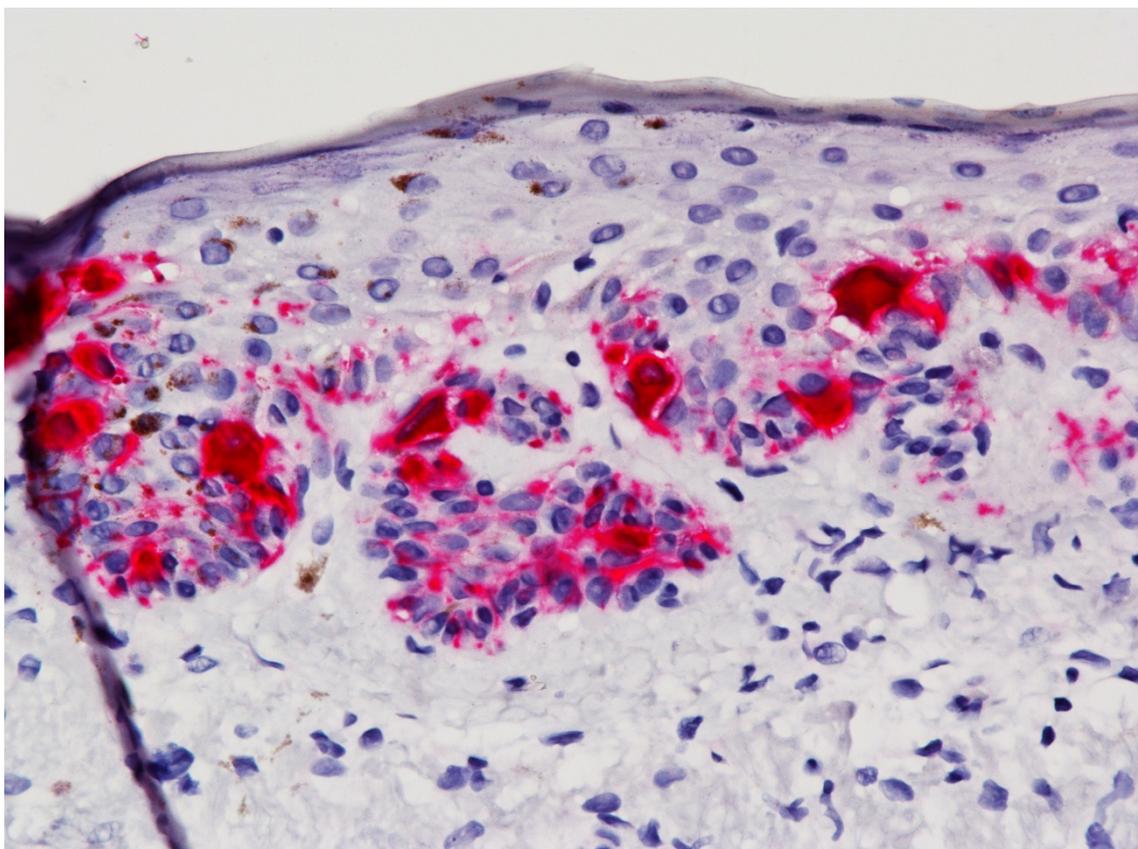


Abb.15: Präparat einer LM in Melan-A mit sichtbaren RZ

Das Präparat einer LM bei einer 91-jährigen Patientin mitfazialer Lokalisation wird in Abb. 16 gezeigt. In diesem Präparat wurden mehrkernige melanozytäre RZ gefunden, die in HE-Färbung sichtbar sind.

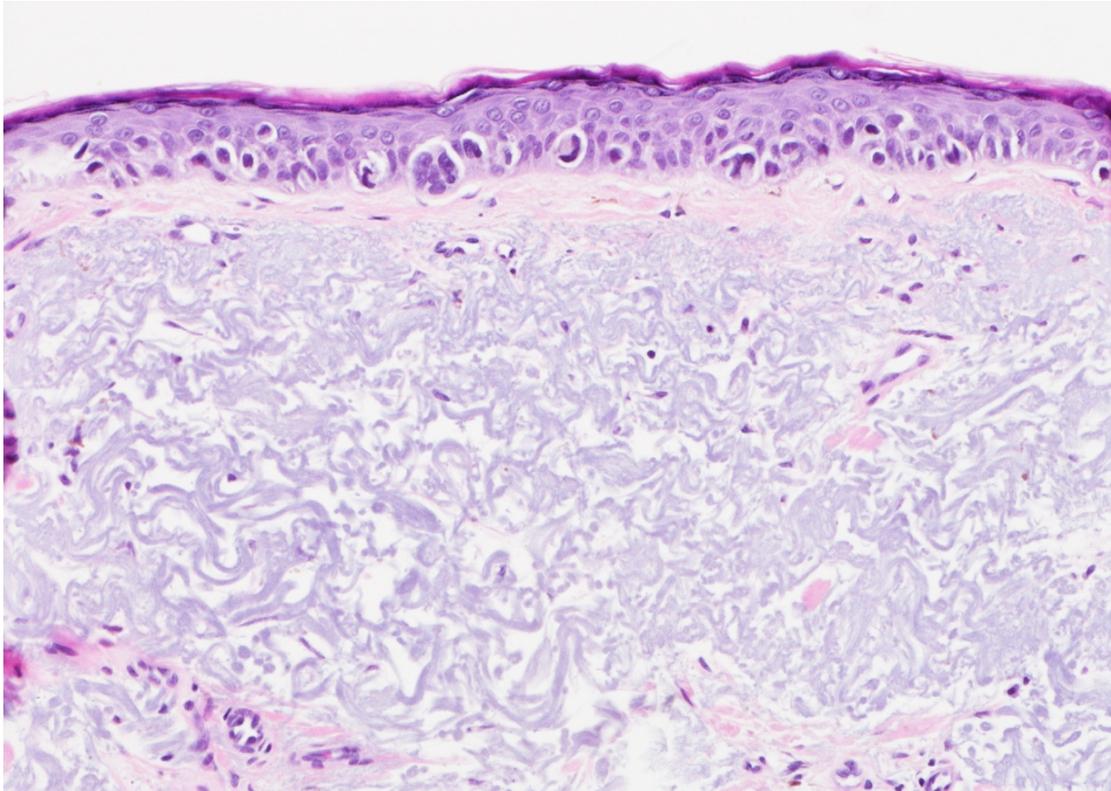


Abb.16: Präparat einer LM bei einem 91-jährigen Patienten in HE

3.5.7.3 Riesenzellen in Compound Nävi im Vergleich zu Basalzellkarzinom-Rändern in HE-Färbung

In der Auswertung in einer Kontingenzanalyse, die das Vorkommen von RZ in CN und BZK-R in HE analysiert, stellen sich im Fishers exakter Test bei einem p-Wert von $<,0001$ die Unterschiede im Vorkommen oder Nicht-Vorkommen der RZ in den zwei Gruppen als signifikant dar (s. Tab.43-44).

Häufigkeiten Zeile %	ja	nein	Summe
BZK-R	0 0,00	30 100,00	30
CN	16 53,33	14 46,67	30
Summe	16	44	60

Tab.43: Kontingenztabelle zum Vorkommen von RZ bei CN und BZK-R in HE

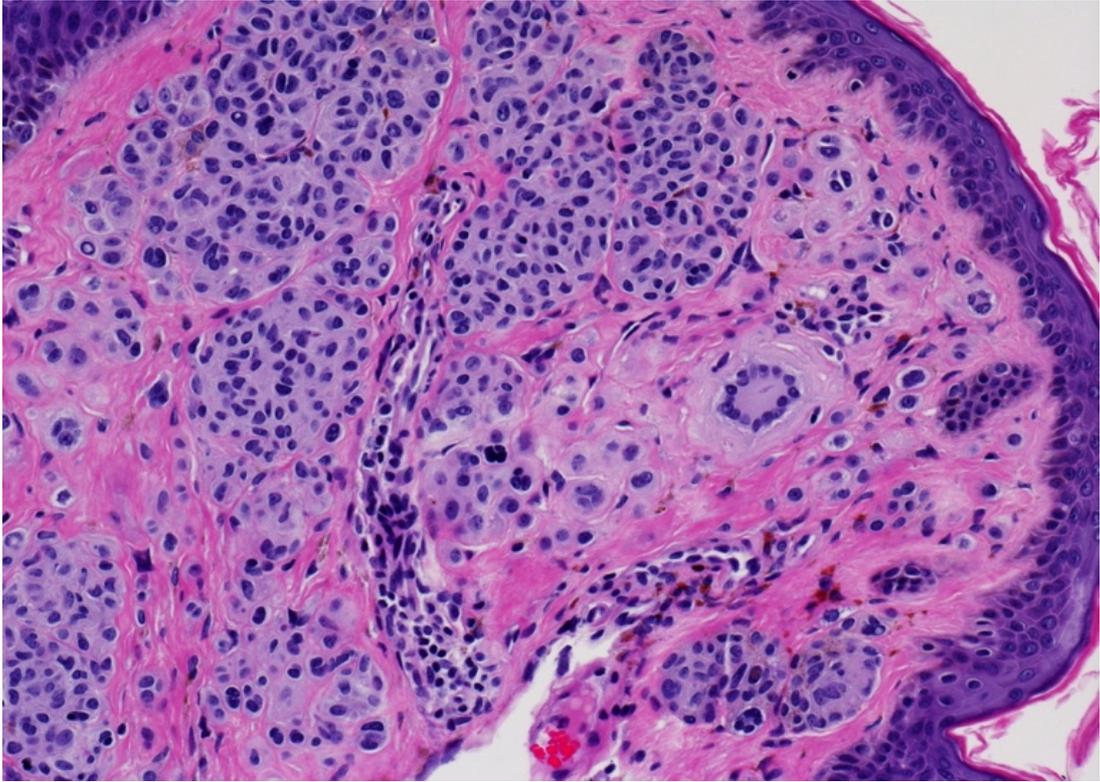
N	Freiheitsgrade	-LogLike	r ² (U)
60	1	14,067211	0,4043

Fishers exakter Test	Wahrsch.	Alternative Hypothese
Links	<,0001*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=BZK-R als für CN
Rechts	1,0000	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist größer für Diagnose=CN als für BZK-R
2-seitig	<,0001*	Wahrsch.(RZ in HE=0) ist unterschiedlich über Diagnose

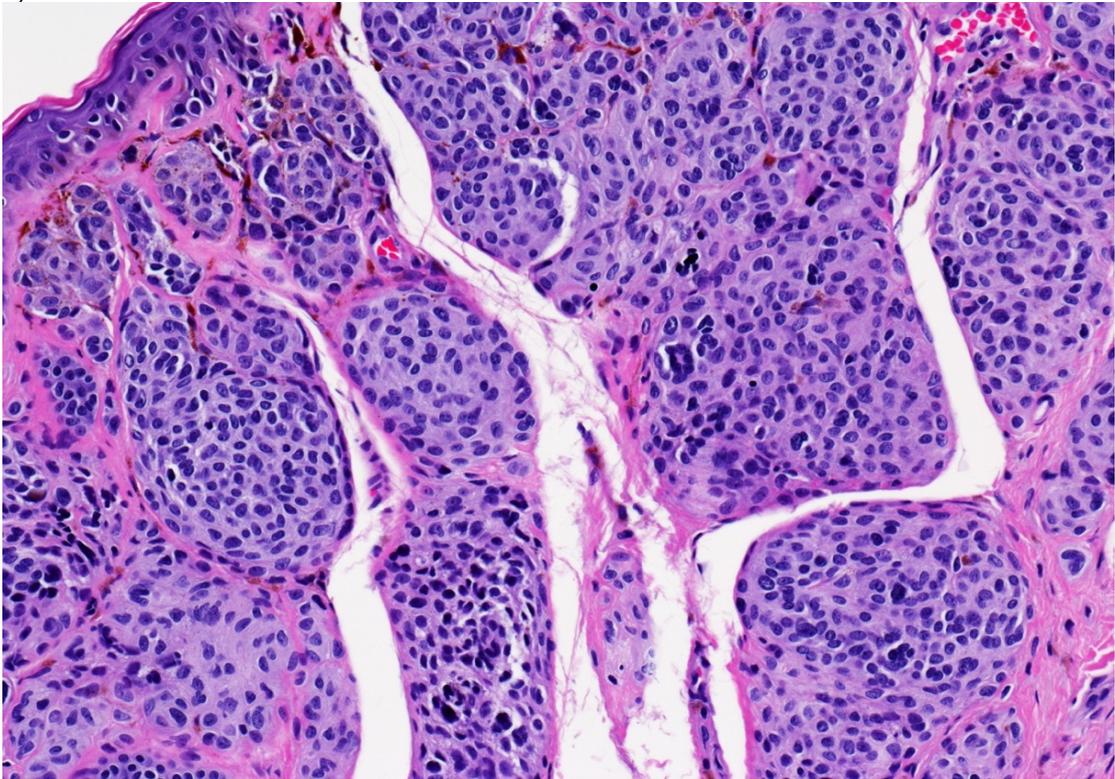
Tab.44: Fishers Exakter Test

In Abb.17 a-c) ist das Präparat eines CN einer 54-jährigen Patientin abgebildet. Es finden sich in diesem Präparat sowohl dermale als auch junktionale RZ. Es sind melanozytäre Nester an der Spitze von Reteleisten zu sehen. Zudem zeigen sich dermal große Nester, die in ein Kollagenstroma eingebettet sind. Die Melanozyten und ihre Kerne werden zur Tiefe hin kleiner als Zeichen einer Ausreifung der Nävuszellen. Es sind keine Atypien sichtbar.

a)



b)



c)

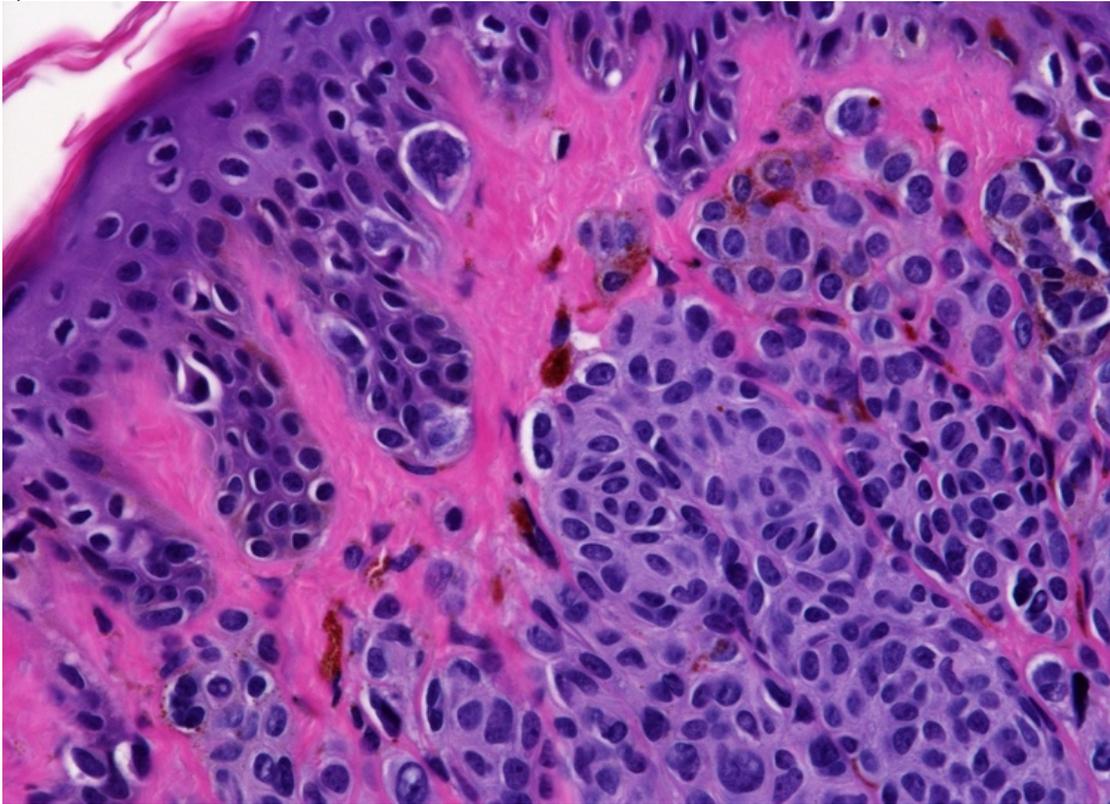


Abb. 17 a-c) HE- Präparat eines CN in unterschiedlichen Vergrößerungen mit sichtbaren RZ

4 Diskussion

Dermatopathologen befinden sich oftmals in der Situation eine LM von einer Vermehrung von Melanozyten in stark lichtgeschädigter Haut unterscheiden zu müssen. Insbesondere ist dies bei frühen LM Läsionen und in den Randkontrollen von exzidierten LM problematisch, da hier nur wenige histopathologische Merkmale einer LM erkennbar sind. In den Randkontrollen vermischen sich die Eigenschaften der LM mit den Merkmalen lichtgeschädigter Haut z.B. einer Melanozyten-Hyperplasie [93].

In der Literatur ist bisher kein genaueres und einheitliches Vorgehen zur Unterscheidung einer FLM oder Randbereichen einer LM von lichtgeschädigter Haut beschrieben. Es werden immer wieder einzelne Merkmale hervorgehoben, allerdings nicht in einer einzelnen Arbeit zusammengefasst.

Chronisch lichtgeschädigte Haut zeigt eine epidermale Atrophie, eine prominente solare Elastose und eine vermehrte Pigmentierung der basalen Keratinozyten auf. Zudem ist eine sichtbare Vermehrung der Melanozyten im Sinne einer Melanozytenhyperplasie vorhanden. Diese zeigen sich einzeln stehend und ohne konfluierendes Wachstum. Charakteristische Merkmale, die hier auf eine LM hinweisen können sind z.B. eine atypische Proliferation der Melanozyten in der basalen Epidermis, die teils in Nestern stehen, zudem können Adnexstrukturen mitbetroffen sein [94]. Außerdem weisen die Melanozyten vergrößerte und chromatindichte Kerne und eine Kernpleomorphie auf [37].

Es wurden in einer Arbeit als Hinweis auf eine LM auch das vermehrte Vorkommen von Makromelanosomen in Randkontrollen von LM beschrieben [95].

Eine wichtige Hilfestellung zur Unterscheidung einer LM von lichtgeschädigter Haut bietet hier auch die Immunhistochemie; hier lassen sich intraepidermale Melanozyten färben, die teils von pigmentierten umgebenden Keratinozyten verdeckt werden [96, 97].

Als weitere Möglichkeit zur Demaskierung von LM - Ausläufern in Randkontrollen, kann eine Kontroll-Biopsie aus normaler, klinisch tumorfreier

und lichtgeschädigter Haut dienen, die eine individuellen Referenz als normale lichtgeschädigte Haut bei dem einzelnen Patienten repräsentiert [93].

Multinukleäre RZ wurden zudem bereits als signifikanten Marker für die Diagnosestellung einer LM erwähnt [91]. Es wurden allerdings hier keine frühen Läsionen der LM untersucht. Zudem waren es oftmals Probenbiopsien, sodass keine Aussage über Ränder getroffen werden konnte.

In unserer Arbeit wurden auch Totalexzisionen begutachtet, es wurden aber auch nicht ausschließlich die Ränder bei den melanozytären Läsionen untersucht. Lediglich bei den Basalzellkarzinomen wurden die Ränder begutachtet, weil wir diese als lichtgeschädigte Haut zur Kontrolle verwendeten. Unser Augenmerk lag somit nicht ausschließlich auf der Begutachtung der Randgebiete der Läsionen, sodass auch hier keine definitive Aussage getroffen werden kann, ob multinukleäre RZ im Randbereich ein Hinweis auf eine melanozytäre Läsion sein können. Dies wäre denkbar, da sich in unserer Arbeit RZ ausschließlich in melanozytären Läsionen zeigten, allerdings muss diese Aussage durch weitere Untersuchungen untermauert werden.

Als Ausgangspunkt für diese Arbeit dienten die bisherigen Erkenntnisse über multinukleäre melanozytäre RZ in lichtgeschädigter Haut, LM und melanozytären Nävi [42, 70, 91].

Multinukleäre RZ wurden zudem auch in benignen lichenoiden Keratosen beobachtet [98]. Dies wurde als ein Hinweis für eine melanozytäre Läsion gesehen, die Regressionszeichen aufweist.

Bisher gab es noch keine nähere Analyse, vergleichende Signifikanztestung und Zusammenfassung der Aussagen und Erkenntnisse in Bezug auf die RZ in FLM, in melanozytären Nävi und in lichtgeschädigter Haut.

Wir haben die Aussagen daher zusammenfassend überprüft und haben insbesondere FLM - Läsionen ins Auge gefasst. Ferner wurden Compound Nävi als Vertreter der benignen melanozytären Tumoren auf das Vorkommen von RZ untersucht. Tumorfremde BZK- Ränder wurden als lichtgeschädigte Haut angesehen und als Kontrolle begutachtet

Die Anzahl der Kerne in den RZ wurden hierbei in unserer Arbeit nicht berücksichtigt. Interessant wäre es, nochmal zu überprüfen, ob die Anzahl der Kerne auch mit einer höheren Wahrscheinlichkeit der Diagnose LM einhergeht.

4.1 Altersverteilung

Es zeigten sich in der Varianzanalyse signifikante Unterschiede in der Altersverteilung innerhalb der einzelnen Diagnosen (p-Wert <0.0001) Allerdings wurde in der Vorauswahl schon das Inklusionskriterium des Alters festgelegt auf >45 Jahre, sodass man dennoch in der Theorie von einer hinreichenden UV-Exposition in allen Diagnosen ausgehen kann.

4.2 Lokalisationen

In der Kontingenzanalyse zeigte sich im Fishers-exakter Test bei einem p-Wert 0,56 in der Diagnose CN und einem p-Wert von 1,0 in der Diagnose FLM kein signifikanter Unterschied im Vorkommen der RZ bei extrafazialem und fazialem Ursprung. Auf Grund der Tatsache, dass alle untersuchten Stellen einem UV exponierten Areal entspringen, ist auch in der Theorie von keinem Einfluss der Lokalisation auf die Ergebnisse auszugehen.

4.3 Riesenzellen

Multinukleäre RZ wurden in HE-Färbung bei FLM-Fällen in 27,6%(n=8), 95% KI [12,7% ; 47,2%], bei LM-Fällen in 34,4% (n=11) 95% KI [18,6% ; 53,2%] und bei CN-Fällen in 53,3% (n=16), 95% KI [34,33% ; 71,66%] nachgewiesen. In lichtgeschädigter Haut (BZK-Ränder) waren sie in 0% der Fälle sichtbar.

Die Verteilung des Vorkommens oder Nicht-Vorkommens der RZ stellte sich innerhalb der verschiedenen Diagnosen (FLM, LM, CN und BZK-R) bei einem p-Wert von 0,0001 signifikant unterschiedlich dar.

Daher wurden auch die einzelnen Diagnose-Gruppen miteinander verglichen.

Es ergaben sich bei einem p-Wert nach Pearson von 0,10 keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Vorkommens der RZ innerhalb der melanozytären Läsionen in HE-Färbung (FLM, LM, CN).

Bezüglich des Vorkommens von RZ in FLM und LM stellten sich sowohl in HE-Färbung, als auch in Melan-A keine signifikanten Unterschiede in den zwei Gruppen dar.

Es zeigte sich allerdings deskriptiv eine Zunahme im Vorkommen von RZ in FLM und LM in H.E und Melan A Färbung, diese ist allerdings nicht signifikant. In der Vereinigungsmenge der RZ in HE und in Melan A zeigten sich wiederum prozentual mehr Präparate mit RZ bei FLM als bei LM. Auch diese Unterschiede sind allerdings nicht signifikant. Zu beachten ist allerdings hier wiederum, dass in nur 5 Fällen bei LM und in 28 Fällen in FLM die Melan A Färbung vorhanden war, sodass hier die Gruppen nicht direkt miteinander zu vergleichen sind. Um die Unterschiede näher zu überprüfen müsste man ähnliche Fallzahlen mit derselben Färbung untersuchen.

In CN waren vor allem die junctionalen RZ von Interesse, daher wurde hier auch nochmals mit dieser Bedingung das Vorkommen der RZ auf signifikante Unterschiede im Vergleich zu den anderen melanozytären Tumoren (FLM, LM) untersucht. Auch hier zeigten sich bei einem p-Wert von 0,173 keine signifikanten Unterschiede im Vorkommen von RZ im Vergleich zu den anderen melanozytären Tumoren (s. Abb.10).

Insgesamt deutet sich in den Präparaten in HE bei der Gesamtzahl der RZ eine Zunahme der Wahrscheinlichkeit für das Vorkommen von RZ an, wenn mehr Melanozyten vorhanden sind.

In den Compound Nävi sind viele RZ zu finden, da insgesamt viele Melanozyten vorhanden sind. Man könnte daher annehmen, dass je mehr Melanozyten vorhanden sind, desto wahrscheinlicher ist ein Auftreten von RZ (s. Abb. 9).

Diesen Zuwachs erkennt man nicht, wenn man die Präparate in Melan A Färbung betrachtet, da hier mehr Melan-A gefärbte Präparate bei FLM vorhanden waren und es somit zu einer Verzerrung kommt.

Zu beachten ist, dass die Fallzahlen in unserer Arbeit gering waren und somit auch große Konfidenzintervalle für die Ergebnisse bestehen.

Um die Ergebnisse weiter zu untermauern, müsste man eine höhere Fallzahl wählen, um die Konfidenzintervalle zu verkleinern.

4.4 Zellkerne

Die Zellkerne wurden bei den RZ nicht gezählt sodass hier auch keine Korrelation zwischen Zellkern-Anzahl und Wahrscheinlichkeit einer gewissen Diagnose berechnet werden konnte.

4.5 Fazit zur Fragestellung

Aus den Ergebnissen kann man die Schlussfolgerung ziehen, dass multinukleäre RZ ein Hinweis auf einen melanozytären Tumor sind und im Zweifel als Kriterium dienen können, um eine frühe LM von lichtgeschädigter Haut zu unterscheiden. Unsere Arbeit erweitert somit die Aussage, dass multinukleäre RZ als signifikanten Marker für die Diagnosestellung einer LM dienen [91], um die Tatsache, dass die RZ auch in frühen LM zu sehen sind. Zudem besteht kein signifikanter Unterschied im Vorkommen von multinukleären RZ zwischen benignen und malignen melanozytären Läsionen.

Mehrkernige RZ sollten somit vorerst als Marker für einen melanozytären Tumor verwendet werden, aber nicht ausschließlich als Hinweis für eine LM, da sie auch in CN vorkommen.

Sie sind somit ein wichtiges Kriterium einen melanozytären Tumor in lichtgeschädigter Haut zu erkennen.

Zu beachten ist hierbei, dass keine Zellkerne in den RZ gezählt wurden und die Morphologie nicht mitbeachtet wurde, somit sollte der Begriff „starburst“ giant cell nicht verwendet werden. Die Ergebnisse gelten somit allgemein für multinukleäre melanozytäre RZ, aber nicht spezifisch für „starburst“ giant cells.

5 Zusammenfassung

Das maligne Melanom ist ein Tumor der Haut, der bei Invasivität fernmetastasieren kann. Das Risiko steigt mit der Tumordicke. Bei irrtümlicher Fehldiagnose und folglich höherer Tumordicke bei Diagnosestellung steigt demnach auch das Risiko der Fernmetastasierung. Daher ist sowohl die Früherkennung, als auch die korrekte Diagnosestellung dieses Tumors sehr wichtig [4].

Das klinische und histologische Erkennen von Frühformen bzw. in-situ-Melanomen spielt somit eine wichtige Rolle für die weitere Prognose des Patienten.

Unser Augenmerk liegt in dieser Arbeit auf der LM. Es wurde hier zwischen frühen LM und etablierten LM unterschieden.

Aus der LM in lichtgeschädigter Haut kann bei fehlender Früherkennung ein LMM entstehen. Hier kann es für den Dermatohistologen schwierig sein, frühe LM zu erkennen und zu diagnostizieren, da in lichtgeschädigter Haut nicht selten eine Melanozytenhyperplasie besteht, bei der die Melanozyten vermehrt sind. Als Hinweis für einen melanozytären Tumor wurden in der Literatur bereits multinukleäre RZ beschrieben [42, 91].

In dieser Arbeit wurde das Vorkommen dieser Zellen genauer untersucht und in melanozytären Läsionen im Vergleich zu lichtgeschädigter Haut analysiert. Es wurden frühe LM, etablierte LM und CN als Vertreter der melanozytären Tumoren und BZK-Ränder als Kontrolle auf das Vorkommen multinukleärer RZ untersucht. Insgesamt waren es 29 Fälle von FLM, 32 Fälle von LM, 30 Fälle von CN und 30 BZK-R .

Das Vorhandensein von mehrkernigen melanozytären RZ wurde statistisch ausgewertet und es wurde überprüft, ob sie als ein allgemeiner Hinweis auf melanozytäre Tumoren gelten oder auch in chronisch lichtgeschädigter Haut ohne melanozytären Tumor vorkommen können.

Die Auswertung erfolgte mittels Chi²-Test, Fisher-Test und ANOVA. Die Ergebnisse wurden auf Signifikanz getestet.

Multinukleäre RZ wurden in HE-Färbung bei FLM-Fällen in 27,6%(n=8), 95% KI [12,7% ; 47,2%], bei LM-Fällen in 34,4% (n=11) 95% KI [18,6% ; 53,2%] und bei CN-Fällen in 53,3% (n=16), 95% KI [34,33% ; 71,66%] nachgewiesen. In lichtgeschädigter Haut (BZK-Ränder) waren sie in 0% der Fälle sichtbar.

Die Unterschiede innerhalb der vier Gruppen zeigten sich signifikant.

Es zeigten sich allerdings keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Vorkommens von RZ innerhalb der melanozytären Tumoren.

Die Unterschiede im Vorkommen von RZ in melanozytären Läsionen im Vergleich zu BZK-Rändern zeigten sich hingegen signifikant.

Zentrales Ergebnis dieser Arbeit war, dass RZ ein Hinweis auf eine melanozytäre Läsion sein können. Allerdings sollte man dies nicht als einziges Kriterium für die Diagnose einer LM verwenden, da die RZ auch in benignen melanozytären Tumoren vorkommen können.

Zusammenfassend kann durch diese Arbeit belegt werden, dass bei der Diagnosefindung einer Läsion in lichtgeschädigter Haut im Zweifel das Vorkommen von multinukleären RZ als Kriterium für einen melanozytären Tumor und als Hinweis für eine FLM hinzugezogen werden kann.

6 Literaturverzeichnis

1. Cerroni, L.G., C. et al, *Histopathologie der Haut*. 2016: Springer. p. 638-662.
2. AWMF, *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms*. 2020.
3. Berlin, R.K.-I.H.u.d.G.d.e.K.i.D.e.V.H., *Krebs in Deutschland für 2015/2016*. 2019.
4. Garbe, C., et al., *Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline - Update 2016*. Eur J Cancer, 2016. **63**: p. 201-17.
5. Armstrong, A., *Advances in Malignant Melanoma- Clinical and Research Perspectives*. 2011: InTech 6-16.
6. Okhovat, J.-P., et al., *The first 30 years of the American Academy of Dermatology skin cancer screening program: 1985-2014*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2018. **79**(5): p. 884-891.e3.
7. Brunssen, A., et al., *Impact of skin cancer screening and secondary prevention campaigns on skin cancer incidence and mortality: A systematic review*. J Am Acad Dermatol, 2017. **76**(1): p. 129-139.e10.
8. Katalinic, A., N. Eisemann, and A. Waldmann, *Hautkrebsscreening in Deutschland*. Dtsch Arztebl International, 2015. **112**(38): p. 629-634.
9. AWMF, *S3-Leitlinie Prävention von Hautkrebs*. 2014. **Version 1.1**.
10. Abbasi, N.R., et al., *Early Diagnosis of Cutaneous Melanoma Revisiting the ABCD Criteria*. JAMA, 2004. **292**(22): p. 2771-2776.
11. Gaudy-Marqueste, C., et al., *Ugly Duckling Sign as a Major Factor of Efficiency in Melanoma Detection*. JAMA Dermatol, 2017. **153**(4): p. 279-284.
12. Scope, A., et al., *The "ugly duckling" sign: agreement between observers*. Arch Dermatol, 2008. **144**(1): p. 58-64.
13. Balch, C.M., et al., *The prognostic significance of ulceration of cutaneous melanoma*. Cancer, 1980. **45**(12): p. 3012-7.
14. Abbas, O., D.D. Miller, and J. Bhawan, *Cutaneous malignant melanoma: update on diagnostic and prognostic biomarkers*. Am J Dermatopathol, 2014. **36**(5): p. 363-79.
15. Braun-Falco, O., Burgdorf W.H.C. , et al., *Braun-Falco´s Dermatology*. Third ed. 2009: Springer. p. 1420-1422.
16. Pérez, L.L. and B. Bashline, *Skin Cancer: Melanoma*. FP Essent, 2019. **481**: p. 11-16.
17. Bologna, J.L., *Dermatology*. Third ed. Vol. 2. 2012. p. 1892-1906.
18. Rashed, H., et al., *Breslow density is a novel prognostic feature in cutaneous malignant melanoma*. Histopathology, 2017. **70**(2): p. 264-272.
19. Breslow, A., *Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma*. Ann Surg, 1970. **172**(5): p. 902-8.
20. Blaheta, H.J., et al., *Detection of melanoma cells in sentinel lymph nodes, bone marrow and peripheral blood by a reverse transcription-polymerase chain reaction assay in patients with primary cutaneous melanoma: association with Breslow's tumour thickness*. Br J Dermatol, 2001. **145**(2): p. 195-202.
21. Gonzalez, A., *Sentinel Lymph Node Biopsy: Past and Present Implications for the Management of Cutaneous Melanoma with Nodal Metastasis*. Am J Clin Dermatol, 2018. **19**(Suppl 1): p. 24-30.
22. Faries, M.B., et al., *Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma*. N Engl J Med, 2017. **376**(23): p. 2211-2222.
23. Weber, J., et al., *Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma*. N Engl J Med, 2017. **377**(19): p. 1824-1835.
24. Suci, S., et al., *Relapse-Free Survival as a Surrogate for Overall Survival in the Evaluation of Stage II-III Melanoma Adjuvant Therapy*. J Natl Cancer Inst, 2018. **110**(1).
25. Eggermont, A.M.M., et al., *Adjuvant interferon-alpha for the treatment of high-risk melanoma: An individual patient data meta-analysis*. Eur J Cancer, 2017. **82**: p. 171-183.
26. Davar, D. and J.M. Kirkwood, *Adjuvant Therapy of Melanoma*. Cancer Treat Res, 2016. **167**: p. 181-208.

27. Heinzerling, L., A. Hartmann, and M. Hund, *Medikamentöse Tumorthherapie in der Dermato-Onkologie*. 2. ed. 2019, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 45-134.
28. Rabbie, R., et al., *Melanoma subtypes: genomic profiles, prognostic molecular markers and therapeutic possibilities*. The Journal of pathology, 2019. **247**(5): p. 539-551.
29. Heinzerling, L., et al., *Tolerability of BRAF/MEK inhibitor combinations: adverse event evaluation and management*. ESMO Open, 2019. **4**(3): p. e000491.
30. Robert, C., et al., *Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib*. N Engl J Med, 2015. **372**(1): p. 30-9.
31. Flaherty, K.T., et al., *Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations*. The New England journal of medicine, 2012. **367**(18): p. 1694-1703.
32. Wilson, M.A. and L.M. Schuchter, *Chemotherapy for Melanoma*. Cancer Treat Res, 2016. **167**: p. 209-29.
33. Fischer, M., *Prognose des primären und metastasierenden malignen Melanoms. Eine 10-Jahres-Analyse*. Medizinische Dissertationsschrift. Universität Regensburg. , 2013.
34. Gerami, P., *13 - Superficial Spreading Melanoma*, in *Pathology of Melanocytic Tumors*, K.J. Busam, P. Gerami, and R.A. Scolyer, Editors. 2019, Elsevier: Philadelphia. p. 158-167.
35. Stanienda-Sokół, K., et al., *Primary Locations of Malignant Melanoma Lesions Depending on Patients' Gender and Age*. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2017. **18**(11): p. 3081-3086.
36. Pierchalla, K., *Das akrolentiginöse Melanom der Haut: Klinik, Prognose, Fehldiagnosen und Überleben*. Medizinische Dissertationsschrift. Universität Tübingen., 2018.
37. Kempf, W.e.a., *Dermatopathologie*. Third ed. 2015: Springer. p.218-228.
38. Greveling, K., et al., *Epidemiology of Lentigo Maligna and Lentigo Maligna Melanoma in the Netherlands, 1989–2013*. Journal of Investigative Dermatology, 2016. **136**(10): p. 1955-1960.
39. Weinstock, M.A., Sober, A.J., *The risk of progression of lentigo maligna to lentigo maligna melanoma*. British Journal of Dermatology, 1987. **116**(3): p. 303-310.
40. DeWane, M.E., et al., *Melanoma on chronically sun-damaged skin: Lentigo maligna and desmoplastic melanoma*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2019. **81**(3): p. 823-833.
41. Cox, N.H., et al., *Comparison between lentigo maligna melanoma and other histogenetic types of malignant melanoma of the head and neck*. Scottish Melanoma Group. Br J Cancer, 1996. **73**(7): p. 940-4.
42. Cohen, L.M., *Lentigo maligna and lentigo maligna melanoma*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1995. **33**(6): p. 923-936.
43. Gong, H.-Z., H.-Y. Zheng, and J. Li, *Amelanotic melanoma*. Melanoma Research, 2019. **29**(3): p. 221-230.
44. Coleman, W.P., III, et al., *Nevi, Lentiginos, and Melanomas in Blacks*. Archives of Dermatology, 1980. **116**(5): p. 548-551.
45. Palicka, G.A. and A.R. Rhodes, *Acral melanocytic nevi: prevalence and distribution of gross morphologic features in white and black adults*. Arch Dermatol, 2010. **146**(10): p. 1085-94.
46. Lund, H.Z. and G.D. Stobbe, *The natural history of the pigmented nevus; factors of age and anatomic location*. Am J Pathol, 1949. **25**(6): p. 1117-55, incl 4 pl.
47. Maize, J.C. and G. Foster, *Age-related changes in melanocytic naevi*. Clin Exp Dermatol, 1979. **4**(1): p. 49-58.
48. Bauer, J. and C. Garbe, *Acquired Melanocytic Nevi as Risk Factor for Melanoma Development. A Comprehensive Review of Epidemiological Data*. Pigment Cell Research, 2003. **16**(3): p. 297-306.
49. Swerdlow, A.J., et al., *Benign melanocytic naevi as a risk factor for malignant melanoma*. British medical journal (Clinical research ed.), 1986. **292**(6535): p. 1555-1559.
50. Hauschild, A., et al., *Melanozytäre Nävi*. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2011. **9**(9): p. 723-736.
51. Calderone, D.C. and N.A. Fenske, *The clinical spectrum of actinic elastosis*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1995. **32**(6): p. 1016-1024.

52. Rhodes, A.R., T.J. Harrist, and K. Momtaz-T, *The PUVA-induced pigmented macule: A lentiginous proliferation of large, sometimes cytologically atypical, melanocytes*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1983. **9**(1): p. 47-58.
53. Bologna, J.L., *Dermatology*, ed. J.L. Bologna. Vol. 2. 2012.
54. Johnston, R.B., *Weedon's Skin Pathology Essentials*. Second ed. 2017: Elsevier. p. 526-558.
55. Cerroni, L.G., C. et al, *Histopathologie der Haut*. 2016: Springer. p. 557-580.
56. Marzuka, A.G. and S.E. Book, *Basal cell carcinoma: pathogenesis, epidemiology, clinical features, diagnosis, histopathology, and management*. The Yale journal of biology and medicine, 2015. **88**(2): p. 167-179.
57. Röcken, M.S., M., *Taschenatlas Dermatologie*. 2010: Thieme. p. 216-217.
58. Alter, M., et al., *Aktuelle Diagnostik und Behandlung des Basalzellkarzinoms*. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2015. **13**(9): p. 863-877.
59. Rubin, A.I., E.H. Chen, and D. Ratner, *Basal-cell carcinoma*. N Engl J Med, 2005. **353**(21): p. 2262-9.
60. Heppt, M., T. von Braunmühl, and C. Berking, *[What is new in basal cell carcinoma?]*. Hautarzt, 2016. **67**(11): p. 876-883.
61. Johnston, R.B., *Weedons Skin Pathology Essentials*. 2017: Elsevier. p. 505-524.
62. Klinik, R.S., S. , *Lehrbuch der Physiologie*. 2005: Thieme.
63. Gupta, G., et al., *Giant cells in dermatology*. Indian journal of dermatology, 2014. **59**(5): p. 481-484.
64. Kumar, S.N., et al., *Granuloma with langhans giant cells: An overview*. Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP, 2013. **17**(3): p. 420-423.
65. Durdu, M., *Cutaneous Cytology an Tzanck Smear Test*. 2019: Springer. p.63-70.
66. Tagami, H. and M. Uehara, *Multinucleated epidermal giant cells in inflammatory skin diseases*. Arch Dermatol, 1981. **117**(1): p. 23-5.
67. Solomon, A.R., et al., *The Tzanck Smear in the Diagnosis of Cutaneous Herpes Simplex*. JAMA, 1984. **251**(5): p. 633-635.
68. Oranje, A.P. and E. Folkers, *The Tzanck Smear: Old, but Still of Inestimable Value*. Pediatric Dermatology, 1988. **5**(2): p. 127-129.
69. Elder, D.E., *Lever's histopathology of the skin*. 2014: Lippincott Williams & Wilkins.
70. Katz, S.K. and J. Guitart, *Starburst giant cells in benign nevocytic lesions*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1998. **38**(2): p. 283.
71. Clark, W.H., Jr. and M.C. Mihm, Jr., *Lentigo maligna and lentigo-maligna melanoma*. The American journal of pathology, 1969. **55**(1): p. 39-67.
72. Clark, W.H., Jr., et al., *The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin*. Cancer Res, 1969. **29**(3): p. 705-27.
73. Mitchell, R.E., *THE EFFECT OF PROLONGED SOLAR RADIATION ON MELANOCYTES OF THE HUMAN EPIDERMIS*. J Invest Dermatol, 1963. **41**: p. 199-212.
74. Guitart, J. and P. Gerami, *Touton-like giant cells in a Spitz's nevus*. Journal of Cutaneous Pathology, 2008. **35**(7): p. 694-695.
75. Häfner, H.M., et al., *3D histology-guided surgery for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma: recurrence rates and clinical outcome*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011. **40**(9): p. 943-8.
76. Breuninger, H., et al., *[Long-term experiences with histologic control of the incision margin (3-D histology)]*. Hautarzt, 1989. **40**(1): p. 14-8.
77. Cerroni, L.G., C. et al, *Histopathologie der Haut*. 2016: Springer. p. 7-13.
78. Logan, M.E. and M.T. Zaim, *Histologic stains in dermatopathology*. Journal of the American Academy of Dermatology, 1990. **22**(5, Part 1): p. 820-830.
79. Feldman, A.T. and D. Wolfe, *Tissue Processing and Hematoxylin and Eosin Staining, in Histopathology: Methods and Protocols*, C.E. Day, Editor. 2014, Springer New York: New York, NY. p. 31-43.
80. Blessing, K., D.S. Sanders, and J.J. Grant, *Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants*. Histopathology, 1998. **32**(2): p. 139-46.
81. Ohsie, S.J., et al., *Immunohistochemical characteristics of melanoma*. Journal of Cutaneous Pathology, 2008. **35**(5): p. 433-444.

82. Orchard, G. and E. Wilson Jones, *Immunocytochemistry in the diagnosis of malignant melanoma*. Br J Biomed Sci, 1994. **51**(1): p. 44-56.
83. Busam, K.J., et al., *Expression of melan-A (MART1) in benign melanocytic nevi and primary cutaneous malignant melanoma*. Am J Surg Pathol, 1998. **22**(8): p. 976-82.
84. Hofbauer, G.F., et al., *Melan A/MART-1 immunoreactivity in formalin-fixed paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution*. Melanoma Res, 1998. **8**(4): p. 337-43.
85. Busam, K.J., et al., *Immunoreactivity for A103, an Antibody to Melan-A (Mart-1), in Adrenocortical and Other Steroid Tumors*. The American Journal of Surgical Pathology, 1998. **22**(1).
86. Herrera, G.A., C. Hancock, and B.C. Allen, *Specificity of antibody HMB-45*. Arch Pathol Lab Med, 1992. **116**(9): p. 900-1.
87. Bishop, P.W., et al., *An immunophenotypic survey of malignant melanomas*. Histopathology, 1993. **23**(2): p. 159-66.
88. Fernando, S.S., S. Johnson, and J. Bäte, *Immunohistochemical analysis of cutaneous malignant melanoma: comparison of S-100 protein, HMB-45 monoclonal antibody and NKI/C3 monoclonal antibody*. Pathology, 1994. **26**(1): p. 16-9.
89. Wood, W.S. and V.A. Tron, *Analysis of HMB-45 immunoreactivity in common and cellular blue nevi*. J Cutan Pathol, 1991. **18**(4): p. 261-3.
90. Skelton, H.G., 3rd, et al., *HMB-45 staining in benign and malignant melanocytic lesions. A reflection of cellular activation*. Am J Dermatopathol, 1991. **13**(6): p. 543-50.
91. Cohen, L.M., *The starburst giant cell is useful for distinguishing lentigo maligna from photodamaged skin*. J Am Acad Dermatol, 1996. **35**(6): p. 962-8.
92. Hemmerich, W.A. *StatistikGuru*. 2015 - 2021; Available from: <https://statistikguru.de/lexikon/konfidenzintervall.html>.
93. McGuire, L.K., et al., *Melanoma of the lentigo maligna subtype: diagnostic challenges and current treatment paradigms*. Plast Reconstr Surg, 2012. **129**(2): p. 288e-299e.
94. Reed, J.A. and C.R. Shea, *Lentigo maligna: melanoma in situ on chronically sun-damaged skin*. Arch Pathol Lab Med, 2011. **135**(7): p. 838-41.
95. Sethi, M., et al., *Macromelanosomes: Their Significantly Greater Presence in the Margins of a Lentigo Maligna Versus Solar Lentigo*. The American Journal of Dermatopathology, 2014. **36**(6): p. 490-492.
96. Helm, K. and J. Findeis-Hosey, *Immunohistochemistry of pigmented actinic keratoses, actinic keratoses, melanomas in situ and solar lentiginos with Melan-A*. Journal of Cutaneous Pathology, 2008. **35**(10): p. 931-934.
97. Helm, K. and J. Findeis-Hosey, *Immunohistochemistry of pigmented actinic keratoses, actinic keratoses, melanomas in situ and solar lentiginos with Melan-A*. J Cutan Pathol, 2008. **35**(10): p. 931-4.
98. Dalton, S.R., et al., *Atypical junctional melanocytic proliferations in benign lichenoid keratosis*. Hum Pathol, 2003. **34**(7): p. 706-9.

7 Abbildungsverzeichnis

ABB. 1: PROZENTUALER ANTEIL DER HÄUFIGSTEN TUMORLOKALISATIONEN AN ALLEN KREBSNEUERKRANKUNGEN IN DEUTSCHLAND 2016 (OHNE NICHT MELANOTISCHEN HAUTKREBS) AUS DEM ZENTRALEN KREBSREGISTER DES RKI	2
ABB. 2: VERTEILUNG DER DIAGNOSEN IM PATIENTENGUT IN %.....	48
ABB. 3: MOSAIKDIAGRAMM ZUR GESCHLECHTERVERTEILUNG AUF GRUND DER DIAGNOSE	50
ABB. 4: ALTERSVERTEILUNG INNERHALB DES GESAMTEN PATIENTENGUTS	51
ABB. 5: ANOVA, ALTER NACH DIAGNOSE	52
ABB. 6: MOSAIKDIAGRAMM DER LOKALISATION NACH DIAGNOSE	54
ABB. 7: MOSAIKDIAGRAMM ZU DER VERTEILUNG VON RZ NACH EXTRAFAZIALER VS. FAZIALER LOKALISATION IN FLM.....	56
ABB. 8: MOSAIKDIAGRAMM ZU DER VERTEILUNG VON RZ NACH EXTRAFAZIALER VS. FAZIALER LOKALISATION IN CN.....	58
ABB. 9: MOSAIKDIAGRAMM ZUM VORKOMMEN VON RIESENZELLEN IN BEZUG AUF DIE DIAGNOSE	60
ABB. 10: MOSAIKDIAGRAMM ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN HE/MELAN A UND BEI CN JUNKTIONAL.....	64
ABB. 11: MOSAIKDIAGRAMM ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN MELAN A.....	68
ABB. 12: MOSAIKDIAGRAMM ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN HE ODER/UND MELAN A 70	
ABB. 13: FLM MIT SICHTBAREN RZ IN A) HE, B) MELAN-A.....	73
ABB. 14: A-D) HE-PRÄPARAT EINER LM MIT SICHTBAREN RZ IN UNTERSCHIEDLICHEN VERGRÖßERUNGEN	76
ABB. 15: PRÄPARAT EINER LM IN MELAN-A MIT SICHTBAREN RZ	77
ABB. 16: PRÄPARAT EINER LM BEI EINEM 91-JÄHRIGEN PATIENTEN IN HE	78
ABB. 17 A-C) HE- PRÄPARAT EINES CN IN UNTERSCHIEDLICHEN VERGRÖßERUNGEN MIT SICHTBAREN RZ.....	81

8 Tabellenverzeichnis

TAB. 1 ABCDE - REGEL MODIFIZIERT NACH ABBASI ET AL	4
TAB. 2: T-KLASSIFIKATION DES PRIMÄRTUMORS BEI MALIGNEM MELANOM (AJCC 2016/UICC 2016) .6	6
TAB. 3: N-KLASSIFIKATION DES PRIMÄRTUMORS BEI MALIGNEM MELANOM (AJCC 2016/UICC 2016)..7	7
TAB. 4: M-KLASSIFIKATION DES PRIMÄRTUMORS BEI MALIGNEM MELANOM (AJCC 2016/UICC 2016) .8	8
TAB. 5: STADIENEINTEILUG DES MALIGNEN MELANOMS (AJCC 2016/UICC 2016).....8	8
TAB. 6 : EMPFOHLENE SICHERHEITSABSTÄNDE JE NACH TUMORDICKE	9
TAB. 7: KLASSIFIKATION DER BASALZELLKARZINOME.....	22
TAB. 8: KONTINGENZTABELLE DER VERTEILUNG DES GESCHLECHTES AUF GRUND DER DIAGNOSE	49
TAB. 9: QUANTILE (ALTERSVERTEILUNG)	51
TAB. 10: VARIANZANALYSE	52
TAB. 11: MITTELWERTE DER EINFAKTORIELLEN ANOVA.....	53
TAB. 12: LISTE DER SORTIERTEN DIFFERENZEN	53
TAB. 13: VERTEILUNG DER LOKALISATIONEN NACH FAZIAL UND EXTRAFAZIAL IN %	54
TAB. 14: KONTINGENZTABELLE ZUR LOKALISATION EXTRAFAZIAL VS. FAZIAL IN DEN VERSCHIEDENEN DIAGNOSEN.....	55
TAB. 15: KONTINGENZTABELLE RZ IN HE NACH LOKALISATION EXTRAFAZIAL VS. FAZIAL IN FLM	56
TAB.16: FISHERS EXAKTER TEST	57
TAB.17: KONTINGENZTABELLE RZ IN HE NACH LOKALISATION EXTRAFAZIAL VS. FAZIAL IN CN.....	58
TAB. 18: FISHERS EXAKTER TEST	58
TAB.19: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RIESENZELLEN IN BEZUG AUF DIE DIAGNOSE...60	60
TAB.20 : CHI ² - TEST	60
TAB.21: ANZAHL UND % DER PRÄPARATE MIT RZ IN FLM, LM UND CN IN HE - FÄRBUNG	61
TAB.22: ANZAHL UND % DER PRÄPARATE MIT RZ IN CN MIT UNTERSCHIEDUNG ZWISCHEN JUNKTIONALEN UND DERMALEN RZ IN HE-FÄRBUNG	62
TAB.23 : KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ IN HE BEI MELANOZYTÄREN LÄSIONEN	62
TAB.24: CHI ² - TEST	62
TAB.25 : KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN HE/MELAN A UND BEI CN JUNKTIONAL.....	64
TAB.26: CHI ² - TEST	64
TAB. 27: OR UND KI.....	65
TAB.28: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN HE FÄRBUNG	65
TAB.29: CHI ² - TEST	66
TAB.30: FISHERS EXAKTER TEST	66

TAB.31: ANZAHL UND PROZENTUALER ANTEIL DER PRÄPARATE IN MELAN A MIT ANGABE DES %-ANTEILS DER PRÄPARATE MIT RZ IN LM UND FLM.....	66
TAB.32: OR UND KI.....	67
TAB.33: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN MELAN A.....	67
TAB.34: FISHERS EXAKTER TEST	68
TAB.35: OR UND KI.....	69
TAB.36: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND LM IN HE ODER MELAN A	70
TAB.37: CHI ² -TEST.....	70
TAB.38: ÜBERSICHT ÜBER ANZAHL UND %-ANTEIL DER PRÄPARATE MIT RZ IN FLM, LM UND CN IM VERGLEICH ZU BZK-R IN HE - FÄRBUNG.....	71
TAB.39 : KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND BZK-R IN HE	72
TAB.40: FISHERS EXAKTER TEST	72
TAB.41: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI FLM UND BZK-R IN HE	74
TAB.42: FISHERS EXAKTER TEST	74
TAB.43: KONTINGENZTABELLE ZUM VORKOMMEN VON RZ BEI CN UND BZK-R IN HE	79
TAB.44: FISHERS EXAKTER TEST	79

9 Erklärung zum Eigenanteil

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Die Arbeit wurde in der Universität - Hautklinik Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Bauer durchgeführt.

Die Konzeption der Studie wurde von mir gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Bauer erstellt.

Die Erhebung der Daten wurde von mir, Chiara Giulia Schinaia, eigenhändig durchgeführt. Die statistische Auswertung wurde von mir vorgenommen, unterstützt durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen und Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Bauer.

Ich versichere außerdem, dass ich die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe, und dass diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

10 Danksagung

Diese Dissertation entstand an der Universitäts-Hautklinik der Eberhard Karls Universität Tübingen unter der Leitung des ärztlichen Direktors Herrn Professor Dr. med. M. Röcken, dem ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Materialien für die Entstehung dieser Arbeit danke.

Meinem Betreuer Herrn Professor Dr. med. Jürgen Bauer danke ich für die Festlegung des Themas der Dissertation. Insbesondere danke ich ihm für seine ausgezeichnete wissenschaftliche Unterstützung und für die engagierte Betreuung und Geduld während der gesamten Erstellung dieser Arbeit.

Vielen Dank allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des histologischen Labors für die Hilfsbereitschaft und Freundlichkeit.

Ferner möchte ich mich für die Expertise von Herrn Dr. Blumenstock bedanken, in dessen Kooperation die Statistik dieser Arbeit entstand.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und Volker Beck für die stetige und liebevolle Begleitung und Motivation während meines Studiums und der Doktorarbeit danken.