

Aus dem Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler

Histopathologie uvealer Melanome nach Brachytherapie

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Cornelia Dahmen
aus Berlin

Rostock, 2025



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung - Nicht-kommerziell -
Weitergabe unter gleichen Bedingungen 4.0 International Lizenz.

Dekan: Prof. Dr. med. Bernd Krause

Gutachter:

Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler

Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock

Prof. Dr. med. Guido Hildebrandt

Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie der Universitätsmedizin Rostock

Prof. Dr. med. Dirk Beyersdorff

Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Nuklear-
medizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

Jahr der Einreichung: 2025

Jahr der Verteidigung: 2026

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das maligne Melanom der Uvea	1
1.2	Inzidenz des malignen Melanoms der Uvea	1
1.3	Risikofaktoren	2
1.4	Einteilung	2
1.4.1	Anteriore Uveamelanome	2
1.4.2	Posteriore Uveamelanome	3
1.5	Symptome	6
1.6	Diagnostik	7
1.6.1	Feinnadelaspirationsbiopsie	9
1.7	Differentialdiagnostik	9
1.8	Prognose	10
1.8.1	Metastasierung	10
1.8.2	Eigenschaften des Tumors mit Auswirkung auf die Prognose .	10
1.9	Therapie	12
1.9.1	Brachytherapie	13
2	Ziele der Arbeit	17
3	Material und Methoden	18
3.1	Patientenkollektiv	18
3.2	Histopathologische Methoden und Untersuchungen	19
3.2.1	Aufbereitung der Proben	19
3.2.2	Histopathologische Untersuchungen	19
3.2.3	Immunhistochemische Untersuchungen	22
3.2.4	Einteilung der Tumorabschnitte	22

3.2.5	Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale	23
3.3	Statistische Auswertung	23
4	Ergebnisse	25
4.1	Patientenkollektiv	25
4.2	Histopathologische Untersuchungen	30
4.2.1	Nekrosen	31
4.2.2	Fibrosierung	34
4.2.3	Gefäßwandfibrose	36
4.2.4	Mitosen	38
4.2.5	Proliferationsindex	40
4.2.6	Entzündung	43
4.2.7	Makrophagen	45
4.2.8	Retinadegeneration	48
4.2.9	Kernschwellungen	50
4.2.10	Kernpyknosen/Karyorrhexis	52
4.2.11	Zytoplasmaödem	54
4.2.12	Gefäßdilatation	56
4.2.13	Gefäßdichte	58
4.3	Morphologische Unterschiede innerhalb der Tumoren	60
4.4	Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale	62
5	Diskussion	66
5.1	Allgemeines	66
5.2	Vergleich unserer Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen mit der Literatur	69
5.2.1	Nekrosen	69
5.2.2	Fibrosierung	71

5.2.3	Gefäßwandfibrose	71
5.2.4	Mitosen	71
5.2.5	Proliferationsindex	72
5.2.6	Entzündung	74
5.2.7	Makrophagen	75
5.2.8	Retinadegeneration	76
5.2.9	Kernschwellungen	76
5.2.10	Kernpyknosen/Karyorrhexis	77
5.2.11	Zytoplasmaödem	77
5.2.12	Gefäßdilatation	77
5.2.13	Gefäßdichte	78
5.3	Morphologische Unterschiede innerhalb der Tumoren	79
5.4	Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale	79
5.5	Methodendiskussion	82
6	Zusammenfassung	84
	Literatur	86
	Thesen	102

Abbildungsverzeichnis

1	Dosisverteilung innerhalb eines Tumors	22
2	Makroskopisches Bild eines Aderhautmelanoms	26
3	Mikroskopische Übersichtsaufnahme eines stärker regressiv veränder- ten gemischtzelligen malignen Melanoms der Choroidea	27
4	Mikroskopische Aufnahme eines gemischtzelligen malignen Melanoms der Aderhaut	28
5	Zeitintervall zwischen Brachytherapie und sekundärer Enukleation . .	28
6	Balkendiagramm Nekrosen	32
7	Balkendiagramm Nekroseareal	32
8	Stark nekrotisches, spindelzelliges malignes Uveamelanom	33
9	Balkendiagramm Fibrosierung	34
10	Gemischtzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit Fibrosierungen	35
11	Balkendiagramm Gefäßwandfibrose	36
12	Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit Gefäßwandfibrose	37
13	Balkendiagramm Mitosen pro HPF	38
14	Malignes Aderhautmelanom mit Mitosen	39
15	Balkendiagramm Proliferationsfraktion	41
16	Balkendiagramm Proliferationsfraktion je nach Vorliegen eines Tumor- rezidivs	41
17	Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit immunhistochemischer Anfärbung des Ki67-Antigens	42
18	Balkendiagramm Entzündung	43
19	Malignes uveales Melanom mit Entzündungszeichen	44
20	Balkendiagramm Makrophagenhäufigkeit	45

21	Gemischtzelliges malignes Melanom der Uvea mit Makrophagenzone .	46
22	CD68-Färbung eines gemischtzelligen malignen Melanoms der Uvea .	47
23	Balkendiagramm Retinadegeneration	48
24	Spindelzelliges malignes Uveamelanom mit Zeichen der Retinadegene- ration	49
25	Balkendiagramm Kernschwellung	50
26	Gemischtzelliges malignes Uveamelanom mit Zeichen der Kernschwellung	51
27	Balkendiagramm Kernpyknosen/Karyorrhexis	52
28	Spindelzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit Kernpyknose . .	53
29	Balkendiagramm Zytoplasmaödem	54
30	Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit Zytoplasmaödem	55
31	Balkendiagramm Gefäßdilatation	56
32	Stärker regressiv verändertes spindelzelliges malignes Aderhautmela- nom mit Gefäßdilatationen	57
33	Balkendiagramm Gefäßdichte	58
34	CD34-Färbung eines epitheloidzelligen malignen Uveamelanoms . . .	59

Tabellenverzeichnis

1	Klassifikation der Irismelanome	3
2	T-Klassifikation	5
3	Klassifikation der posterioren Uveamelanome	5
4	AJCC-Stadieneinteilung	6
5	Untersuchte histologische und immunhistochemische Merkmale	21
6	Überblick über das Patientenkollektiv	29
7	Morphologische Unterschiede zwischen den Tumorabschnitten	61
8	Zeitliche Korrelation der Merkmale	65
9	Proliferationsfraktion nach Pe'er et al. (2001) im Vergleich zu unserer Studie	74

Abkürzungsverzeichnis

¹⁰⁶**Pd** Palladium 106

¹⁰⁶**Rh** Rhodium 106

¹⁰⁶**Ru** Ruthenium 106

¹²⁵**I** Jod 125

Abb. Abbildung

CD cluster of differentiation

COMS Collaborative Ocular Melanoma Study

DNS Desoxyribonukleinsäure

HE Hämatoxylin-Eosin

HPF hochauflösendes Gesichtsfeld

m männlich

Max Maximalwert

Min Minimalwert

MW Mittelwert

n Anzahl

PAS Periodic-Acid-Schiff

PCC Anzahl positiver Zellen

SD Standardabweichung

Sig. Signifikanz

Tab. Tabelle

w weiblich

1 Einleitung

1.1 Das maligne Melanom der Uvea

Das maligne Melanom der Uvea ist ein von Melanozyten des Auges ausgehender maligner Tumor, welcher die Choroidea, den Ziliarkörper sowie die Iris befallen kann. Es ist ein sehr langsam wachsender Tumor mit langen Tumorverdopplungszeiten, welche allerdings kaum einheitlich sind. Der Tumor wächst, zeitlich gesehen, sehr diskontinuierlich. [57]

Uveamelanome können in eine anteriore und eine posteriore Gruppe eingeteilt werden, wobei Melanome der Iris zur ersten und die von Aderhaut und Ziliarkörper zur zweiten Gruppe gehören. [48]

1.2 Inzidenz des malignen Melanoms der Uvea

Obwohl selten im Vergleich zu kutanen Melanomen, ist das Uveamelanom mit 82,5 % der häufigste intraokulare Primärtumor des Erwachsenen in den Vereinigten Staaten von Amerika. [63] Weltweit liegt die Inzidenz bei etwa 7095 Fällen pro Jahr. [91]

Uveale Melanome treten bei hellhäutigen Menschen mit 97,8 % sehr viel häufiger auf als bei dunkelhäutigen Menschen. Die Geschlechterverteilung ist etwa ausgeglichen, mit 51,8 % bei Männern und 48,2 % bei Frauen. [99]

Ein beidseitiger Befall der Augen kann vorkommen, ist aber sehr selten. [81] Die Inzidenz okularer Melanome steigt mit den Lebensjahren an. Der Median liegt bei 62 Jahren in den Vereinigten Staaten von Amerika. [5, 63]

1.3 Risikofaktoren

Als signifikante prädispositionelle Risikofaktoren für das Uveamelanom gelten eine blaue oder graue Augenfarbe, eine helle Hautfarbe sowie die erhöhte Neigung, eine Dermatitis solaris zu entwickeln. [110] Ebenso scheint es Assoziationen zwischen dem Auftreten von uvealen Melanomen einerseits und Haut- und Irisnävi sowie Sommersprossen andererseits zu geben. [111]

Ein weiterer Risikofaktor ist das Ausführen von Schweißarbeiten. Das Risikopotenzial der chronischen Exposition gegenüber Sonnenlicht ist bislang nicht ausreichend belegt, die intermittierende Exposition erhöht das Risiko der Entstehung eines uvealen Melanoms nach aktuellem Kenntnisstand jedoch zumindest nicht. [86]

Zusätzlich ist bei Patienten, die an kongenitaler okulodermaler Melanozytose leiden, die Lebenszeitprävalenz, an einem uvealen Melanom zu erkranken, erhöht. So entwickelt einer von 400 Menschen mit dieser Erkrankung ein uveales Melanom, während dies in der Vergleichspopulation nur bei etwa einem von 13.000 Menschen der Fall ist. [98]

1.4 Einteilung

1.4.1 Anteriore Uveamelanome

Irismelanome

Irismelanome, welche etwa 2 % aller Uveamelanome ausmachen [90], manifestieren sich meist im fünften bis sechsten Lebensjahrzehnt. Sie werden in umschriebene und diffuse Irismelanome unterteilt, welche pigmentiert oder auch nicht pigmentiert sein können. [50]

Die wesentlich häufigeren umschriebenen Irismelanome entwickeln sich meist in der unteren Irishälfte. [94] Sie müssen differentialdiagnostisch von Irisnävi abgegrenzt wer-

den. Hinweise auf eine Malignität sind schnelles Wachstum, starke Vaskularisierung, eine bandförmige Keratopathie, größere Prominenz, ein sekundäres Hornhautödem, diffuse Ausbreitung und Streuung. [50, 93] Die klinische Einteilung der primären Irismelanome findet durch die American Joint Committee on Cancer-Klassifikation statt. [24, 67]

Tabelle 1: Klassifikation der Irismelanome

T1	Tumor auf die Iris begrenzt
T1a	Ausbreitung auf bis zu 3 Uhrzeiten
T1b	Ausbreitung über mehr als 3 Uhrzeiten
T1c	mit Sekundärglaukom
T2	Ausdehnung des Tumors in den Ziliarkörper und/oder die Choroidea
T2a	mit Sekundärglaukom
T3	Ausdehnung des Tumors in den Ziliarkörper und/oder die Choroidea, mit Ausbreitung in die Sklera
T3a	mit Sekundärglaukom
T4	Tumor mit extraskleraler Ausbreitung
T4a	extrasklerale Ausbreitung bis zu 5 mm Durchmesser
T4b	extrasklerale Ausbreitung von mehr als 5 mm Durchmesser

1.4.2 Posteriore Uveamelanome

Ziliarkörpermelanome

Das Ziliarkörpermelanom gehört mit dem Aderhautmelanom zu den posterioren Uveamelanomen. Es ist bei etwa 7 bis 9 % aller Melanome der mittleren Augenhaut das Ursprungsgewebe. [22, 90] Wächst ein Uveamelanom in den Ziliarkörper hinein oder hat es seinen Ursprung in diesem, resultiert daraus eine schlechtere Prognose als ohne Ziliarkörperbeteiligung. [53, 89] Mögliche Erklärungen dafür sind die späte Diagnosestellung des Tumors, da dieser häufig lange Zeit von der Iris verdeckt bleibt, sowie eine eventuelle frühe Metastasierung durch die Nähe zum Gefäßsystem des Körpers und die Kontraktionen des Ziliarmuskels. [33]

Aderhautmelanome

Melanome der Choroidea manifestieren sich durchschnittlich später im Leben als Iris melanome, also etwa in der sechsten bis siebten Lebensdekade [50], mit einem durchschnittlichen Alter bei Diagnosestellung von 62 Jahren. [99] 90 % aller Uvea melanome haben ihren Ursprung in der Aderhaut. [90]

Histologische Einteilung der posterioren Uveamelanome

Posteriore Uveamelanome werden histologisch nach einer Modifikation der „Callender Classification“ von McLean et al. (1983) des Armed Forces Institute of Pathology [64] folgendermaßen eingeteilt:

- spindelzelliger Nävus (nur aus Spindelzellen Typ A bestehend)
- spindelzelliges malignes Melanom (aus Spindelzellen Typ B oder Typ A + B bestehend)
- gemischtzelliges malignes Melanom (aus Spindelzellen und Epitheloidzellen bestehend)
- epitheloidzelliges malignes Melanom (aus Epitheloidzellen bestehend)

Spindelzellmelanome enthalten ausschließlich Spindelzellen, gemischtzellige Melanome hingegen enthalten neben diesen auch noch Epitheloidzellen. [64]

Spindelzellen

Der plumpe und verlängerte Zellkern der Spindelzellen enthält bisweilen deutlich hervortretende Nukleoli. Das umgebende Zytoplasma kann fibrillär oder fein granulär sein. Die Zellen sind in straffen Bündeln angeordnet und besitzen diffus wirkende Zellmembranen. [44, 50]

Epitheloidzellen

Epitheloidzellen besitzen reichlich eosinophiles Zytoplasma mit klar umschriebenen Zellmembranen. Zwischen den einzelnen Zellen findet sich häufig ein extrazellulärer Raum. Die Zellform ist uneinheitlich, jedoch insgesamt größer als die der Spindelzellen. Die Zellkerne sind ebenfalls groß und besitzen neben prominenten, zentralen Nukleoli grobes Chromatin. Mitotische Aktivität findet sich häufiger als in den Spindelzellen. [50]

Klinische Einteilung der posterioren Uveamelanome

Die AJCC-Klassifikation der posterioren uvealen Tumoren ist in den Tabellen 2, 3 und 4 dargestellt. [24, 65]

Tabelle 2: T-Klassifikation nach basalem Durchmesser und Tumordicke

Tumordicke [mm]							
>15	4	4	4	4	4	4	4
12,1 - 15	3	3	3	3	3	4	4
9,1 - 12	3	3	3	3	3	3	4
6,1 - 9	2	2	2	2	3	3	4
3,1 - 6	1	1	1	2	2	3	4
≤ 3	1	1	1	1	2	2	4
≤ 3 3,1 - 6 6,1 - 9 9,1 - 12 12,1 - 15 15,1 - 18 >18 größter basaler Durchmesser [mm]							

Tabelle 3: Klassifikation der posterioren Uveamelanome

Tx	Anatomische Ausdehnung
Ta	Keine Beteiligung des Ziliarkörpers, kein extrasklerales Wachstum
Tb	Beteiligung des Ziliarkörpers, aber kein extrasklerales Wachstum
Tc	Keine Beteiligung des Ziliarkörpers, aber extrasklerales Wachstum ≤ 5 mm
Td	Beteiligung des Ziliarkörpers sowie extrasklerales Wachstum ≤ 5 mm Durchmesser
Te	Jedes T, extrasklerales Wachstum > 5 mm Durchmesser

Tabelle 4: AJCC-Stadieneinteilung der posterioren Uveamelanome

Stadium	T-Klasse	Lymphknotenbefall	Fernmetastasen
I	T1a	N0	M0
IIa	T1b-d, T2a	N0	M0
IIb	T2b, T3a	N0	M0
IIIA	T2c-d, T3b-c, T4a	N0	M0
IIIB	T3d, T4b-c	N0	M0
IIIC	T4d-e	N0	M0
IV	Jedes T	N1	M0
	Jedes T	Jedes N	M1a-c

1.5 Symptome

Je nach Lokalisation im Auge präsentiert sich das Uveamelanom mit unterschiedlichen Symptomen. Häufig bleibt es lange Zeit symptomlos und wird erst als Zufallsbefund bei einer Routineuntersuchung des Auges entdeckt. Wächst der Tumor jedoch in den Bereich der Fovea oder des Sehnervs, kann es bereits früher zu Symptomen kommen. Iris melanome werden vom Patienten häufig selbständig entdeckt, durch eine mehr oder weniger dunkle Pigmentierung der Iris oder eine Verziehung der Pupille durch Vorwachsen des Tumors. Zudem stellen Blutungen in die Vorderkammer sowie eine sektorale Katarakt durch Druck der Tumormasse auf die Linse mögliche Symptome eines Iris melanoms dar.

Durch Wachstum in das Trabekelwerk kann es bei Ziliarkörpermelanomen zu einem Sekundärglaukom kommen, welches Schmerzen, eine Rötung der Augen sowie Visusminderungen hervorrufen kann. Ebenso kann eine Komprimierung der Linse durch die Tumormasse zu Akkommodations- und Refraktionsstörungen führen.

Aderhautmelanome manifestieren sich je nach Lokalisation verschiedenartig. So kann eine Beteiligung der Makula zu Visusminderungen oder eine exsudative Begleitamotio zu Gesichtsfeldausfällen sowie Photopsien führen. In 25 % der choroidalen Melanome besteht jedoch Symptomfreiheit, was die Diagnostik des Melanoms hinauszögern kann. [41, 81, 91]

1.6 Diagnostik

Bei der Diagnostik des uvealen Melanoms sollte zunächst nach Auftreten von Symptomen gefragt werden. Gegebenenfalls berichtet der Patient über eine Beeinträchtigung des Sehvermögens, Schmerzen oder andere Beschwerden, welche ein tumoröses Geschehen im Auge vermuten lassen könnten. Häufig werden Uveamelanome jedoch durch Routineuntersuchungen des Auges entdeckt, bevor sie symptomatisch werden. Zusätzlich sollten anamnestisch andere Primärtumoren erfragt werden, um eine mögliche okulare Metastasierung ausschließen zu können. [100]

Die wichtigste Untersuchungstechnik bei der Diagnostik des choroidalen Melanoms ist die indirekte Ophthalmoskopie, wodurch Aderhautmelanome mit einer Sicherheit von nahezu 100 % entdeckt werden können. [14] Es ist jedoch auf eine vollständige Pupillenerweiterung zu achten. Klassischerweise zeigt sich der meist pigmentierte Tumor pilz- bzw. kragenknopfartig geformt, sobald er die Bruch'sche Membran durchbrochen hat. Eine Pigmentierung ist jedoch nicht obligat. Häufig finden sich auch orangefarbene Lipofuszinablagerungen auf dem Tumor, ein tumoreigenes Gefäßsystem sowie eine tumorferne Begleitamotio. Bei der Untersuchung des Tumors sollte auf eventuelles Größenwachstum geachtet und dieses im besten Fall fotografisch dokumentiert und im Verlauf beurteilt werden.

Choroidale Melanome sind zumeist ophthalmoskopisch scharf abgegrenzt, zeigen jedoch selten auch eine diffuse Infiltration der Umgebung. [10, 100]

Durch die Spaltlampenmikroskopie können Melanome des vorderen Bulbusabschnitts untersucht werden. [81]

Die Sonografie stellt eine wichtige Zusatzuntersuchung zur Diagnostik des Aderhautmelanoms dar. Nach Char et al. (1980) kann es in etwa 89 % der Fälle diagnostiziert oder zumindest als höchst suspekt erkannt werden. [14] Durch die Ultraschalluntersuchung kann auch die Ausdehnung des Tumors bestimmt werden. Weiterhin sind

typische Befunde im A-Scan eine geringe bis mittlere Echogenität sowie eventuelle Gefäßpulsationen. Zum typischen Erscheinungsbild des uvealen Melanoms im B-Scan gehören ein echoleeres Tumorrinneres, eine choroidale Aussparung an der Tumorbasis sowie Verschattungen in der Augenhöhle. [51, 100]

Durch die Fluoreszenzangiografie kann das Gefäßsystem des Tumors dargestellt und das Melanom in 70 % der Fälle auch erkannt werden. [14] Trotz bestimmter suspekter Befunde, die häufig bei choroidalen Melanomen gefunden werden können, existieren jedoch keine pathognomonischen Zeichen, mit denen sich das Vorliegen eines Aderhautmelanoms beweisen lassen würde. Größere Melanome haben häufig ein eigenes Gefäßsystem, welches sich vor dem retinalen Gefäßsystem abbilden kann. Zudem färbt sich der Tumor in der frühen arteriellen Phase fleckig an und verstärkt seine Färbung erst im Verlauf. [58, 100]

Zusätzliche Untersuchungen sind die Gonioskopie, durch welche Tumoren im Bereich des Kammerwinkels dargestellt werden können, sowie die Diaphanoskopie, durch die gegebenenfalls versteckte Melanome zum Vorschein gebracht werden können. Bei dieser Untersuchung zeigen sich uveale Melanome als dunkle Verschattungen. Ebenso kann eine Magnetresonanztomografie hilfreich sein, wenn durch Blutungen im Auge, starke Netzhautablösung oder eine Katarakt nur eine eingeschränkte Beurteilbarkeit des Fundus möglich ist. Zusätzlich kann damit eventuelles extraokulares Wachstum des Tumors beurteilt werden. [10, 51, 81]

Als weitere diagnostische Untersuchung des Ziliarkörpermelanoms gilt die Ultraschallbiomikroskopie, mit der der anteriore Abschnitt des Auges besser untersucht werden kann. [51]

Umschriebene Irismelanome werden meist bei einer Routineuntersuchung oder durch den Patienten selbst bzw. andere Personen aus dem Umfeld des Patienten entdeckt. Diffuse Irismelanome fallen durch eine Heterochromie mit Dunkelfärbung der Iris auf und rufen häufig ein Sekundärglaukom hervor. [44, 81]

Eine gute Möglichkeit zur Diagnostik des Irismelanoms sind die Untersuchung mit der Spaltlampe und der Beobachtung eines eventuellen Größenwachstums des Tumors sowie die Ultraschallbiomikroskopie. Eine Abgrenzung zu benignen Läsionen ist mit diesen Methoden jedoch häufig nicht sicher möglich, weshalb die Entnahme einer Probebiopsie notwendig werden kann oder direkt eine Iridektomie erfolgt. [18, 44, 81, 92] Diese ist jedoch nicht ohne Risiken. [25]

1.6.1 Feinnadelaspirationsbiopsie

Sollte keine ausreichend sichere Aussage über die Dignität des Tumors möglich sein, ist es eventuell notwendig, diese durch die histologische Untersuchung von Zellmaterial zu bestätigen. Eine Technik dafür ist die Feinnadelaspirationsbiopsie. Durch sie ist die Entnahme von Tumormaterial möglich und somit, neben einer Dignitätsbestimmung, auch eine Prognosestellung mithilfe histologischer und zytogenetischer Untersuchungen. [25] Da eine Diagnosestellung häufig klinisch erreicht werden kann, sollte eine Biopsie jedoch, aufgrund des Eingriffsrisikos, zurückhaltend eingesetzt und nur bei bestimmten Fragestellungen durchgeführt werden. [92]

Mögliche Komplikationen einer Biopsie sind eine Tumoraussaat im Stichkanal, Blutungen, Netzhautablösung, Kataraktentstehung sowie eine Infektion des Auges. [16, 25]

1.7 Differentialdiagnostik

Differentialdiagnostisch wichtige Erkrankungen, welche ein uveales Melanom vortäuschen können, sind vor allem Metastasen anderer Primärtumoren, vor allem des Mamma- und des Bronchialkarzinoms. [87] Zudem stellen, unter anderem, noch Aderhautnävi, Aderhauthämangiome, die altersbedingte Makuladegeneration, eine choroidale Amotio anderer Ursache, intraokulare Entzündungen, zystische Veränderungen sowie andere orbitale Raumforderungen wichtige Differentialdiagnosen dar. [58]

1.8 Prognose

1.8.1 Metastasierung

Das uveale Melanom metastasiert am häufigsten in die Leber (89 %). Seltener treten Metastasen in der Lunge (29 %), dem Skelett (17 %), der Haut und dem Unterhautgewebe (12 %) sowie in anderen Geweben auf. [20]

Trotz immer weiter fortschreitender Entwicklungen der Therapiemöglichkeiten liegt die 5-Jahresüberlebensrate beim uvealen Melanom relativ konstant bei 81,6 % [99] und die 10-Jahresüberlebensrate bei 57 %. [53] Durch Metastasierung des Primärtumors sinkt die Überlebenswahrscheinlichkeit rasch ab. Nach Diagnosestellung von Metastasen beträgt die Letalität nach einem Jahr bereits 80 % und nach zwei Jahren sogar 92 %. [20]

1.8.2 Eigenschaften des Tumors mit Auswirkung auf die Prognose

Die Häufigkeit, mit der das uveale Melanom metastasiert, ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Es ist unter Anderem abhängig von Tumordicke und -durchmesser, dem Patientenalter sowie von der Lokalisation des Tumors. [33, 89]

Die Wahrscheinlichkeit der stattgehabten Metastasierung liegt beim Ziliarkörpermelanom nach fünf Jahren bei 18,8 %. Etwas seltener metastasiert das choroidale Melanom mit einer Wahrscheinlichkeit von 15 % nach fünf Jahren. Das Irismelanom hat die beste Prognose mit einer Metastasierungswahrscheinlichkeit von 4,1 % nach fünf Jahren. [89]

Die Prognose eines Uveamelanoms variiert je nach vorhandenem Zelltyp. Der spindelezellige Typ hat eine günstigere Prognose als der gemischtzellige Typ und der epitheloidzellige Typ besitzt die schlechteste Prognose. [64]

Ebenso existieren bestimmte Gefäßmuster, welche eine schlechtere Prognose aufweisen.

Als solche sind vor allem geschlossene Gefäßschleifen sowie Gefäßnetzwerke zu nennen. [32, 60]

Eine Tumordinfiltration von M2-Makrophagen spricht ebenfalls für ein schlechteres Überleben. Eine höhere Dichte dieser Makrophagen ist mit dem Vorkommen einer Monosomie 3 assoziiert, welche ebenfalls mit einer schlechteren Prognose einhergeht. [1, 12, 61, 76]

Außerdem spricht ein Tumoreinbruch in die Vortexvenen für ein verringertes Überleben, da es unter anderem mit einer erhöhten Tumorgroße assoziiert ist. [17, 78]

Die Expression von HLA-I-Antigenen korreliert mit der Prognose eines Uveamelanoms, wobei bei geringerer Expression die Überlebenswahrscheinlichkeit höher ist. Eine geringe HLA-Expression des Tumors begünstigt die vermehrte Zytolyse desselben durch Natürliche Killerzellen und bedingt somit eine bessere Prognose. Ebenso kommt eine HLA-Expression bei epitheloidzelligen Uveamelanomen häufiger vor als bei spindelzelligen. [9, 21]

Mithilfe der Zytogenetik lässt sich gegebenenfalls die Prognose eines Uveamelanoms einschätzen. Sowohl numerische als auch strukturelle Chromosomenaberrationen sind Zeichen für ein erhöhtes Metastasierungsrisiko und damit für eine geringere Überlebensrate. Als wichtigste Faktoren sind dabei die Monosomie 3, die Deletion von 6q und 1p sowie Hinzugewinne auf dem langen Arm von Chromosom 8 zu erwähnen. [1, 76]

Seit einigen Jahren werden statt zytogenetischer Untersuchungen vermehrt Genexpressionsanalysen zur Einschätzung der Prognose eines Uveamelanoms etabliert, da sie klinischen, zytogenetischen sowie pathologischen Methoden in ihrer Aussagekraft überlegen scheinen. [75, 107, 114] Diese Genexpressionsanalysen teilen Uveamelanome hinsichtlich ihrer Prognose in zwei bzw. drei Gruppen ein. Tumoren der Klasse IA haben ein 2-prozentiges Risiko, innerhalb von fünf Jahren Metastasen zu entwickeln. Tumoren der Klasse IB metastasieren mit einer Wahrscheinlichkeit von 21 %

innerhalb dieser Zeit und solche der Klasse II mit einer Wahrscheinlichkeit von 72 %. [28, 69]

Gründe für die höhere Aussagekraft können sein, dass das Genexpressionsmuster im gesamten Tumor relativ homogen verteilt ist und somit eine hohe Sensitivität und Spezifität auch bei wenig Untersuchungsmaterial zu erreichen sind. Eine Monosomie 3 kann hingegen leicht übersehen werden, sobald nicht ausreichend Material zur Untersuchung zur Verfügung steht, weshalb die Sensitivität bei der Chromosomenanalyse geringer ist. [114] Außerdem sind in den letzten Jahren die Fälle häufiger geworden, in denen der Tumor durch Radiotherapie behandelt wird und somit keine Enukleation bzw. Exzision des Tumors erfolgt. Deshalb steht zur genetischen bzw. zytogenetischen Untersuchung häufig ausschließlich Aspirationsbiopsiematerial zur Verfügung, welches oft nicht ausreichend Material für Letztere liefert. [42, 70]

1.9 Therapie

Uveamelanome wurden bis vor einiger Zeit häufig chirurgisch behandelt, das heißt durch lokale Resektion oder Enukleation. Mittlerweile werden die meisten dieser Tumoren konservativ durch strahlentherapeutische Behandlungen therapiert [91, 109], da diese Art der Therapie wesentliche Vorteile birgt wie den möglichen Visuserhalt sowie ein eventuell besseres kosmetisches Ergebnis [47], ohne einen Nachteil in der Überlebenswahrscheinlichkeit zu zeigen. [43]

Vor allem kleine Ziliarkörpermelanome und kleinere Tumoren der Aderhaut sollten primär bestrahlt werden. [31, 40, 94, 109] Patienten mit einem Irismelanom, einem großen Ziliarkörpermelanom oder einem großen choroidalen Melanom profitieren hingegen eher von einer chirurgischen Entfernung des Tumors. [31, 40, 88, 101, 109] Tritt nach einer Bestrahlung erneutes Tumorwachstum auf, sollte der Tumor entweder erneut mit dem gleichen oder einem anderen Radioisotop bestrahlt werden oder doch eine Enukleation des Augapfels erfolgen. [73]

Andere bzw. begleitende konservative Therapiemöglichkeiten sind unter anderem die Protonenbestrahlung, die stereotaktische Cyberknife Radiochirurgie, die Fotokoagulation sowie die Transpupilläre Thermotherapie. [74, 84, 115]

1.9.1 Brachytherapie

Bei der Brachytherapie des Uveamelanoms werden mit Radionukliden besetzte Strahlenträger durch einen kleinen chirurgischen Eingriff auf dem Auge fixiert, welche dann während der Behandlungszeit ionisierende Strahlung an das Auge abgeben. [84] Zur Planung der Bestrahlung werden die Tumordicke mittels A-Scan-Sonografie und der Durchmesser der Tumorbasis mittels B-Scan-Sonografie, Fundoskopie sowie Fundusfotografie ausgemessen. [73]

Es gibt verschiedene Radionuklide, welche zur brachytherapeutischen Behandlung von Uveamelanomen genutzt werden. Ruthenium 106 (^{106}Ru) wird zur Therapie uvealer Melanome vorwiegend in Europa verwendet. Es hat eine geringere Eindringtiefe als Jod 125 (^{125}I), dessen γ -Strahlung deshalb auch für die Bestrahlung größerer Tumoren verwendet werden kann. ^{106}Ru wird aktuell für Tumoren bis etwa 7 mm Dicke verwendet. Die geringere Eindringtiefe sorgt neben der geringeren therapeutischen Reichweite allerdings auch für weniger Strahlenbelastung in dem den Tumor umgebenden Gewebe, weshalb Nebenwirkungen der Strahlentherapie mit Rutheniumapplikatoren seltener auftreten als mit Iodapplikatoren. [3, 19, 46, 73, 84] ^{106}Ru , welches eine Halbwertszeit von 373,59 Tagen hat, sendet vor allem niedrig energetische β^- -Strahlung aus und zerfällt dabei zu radioaktivem Rhodium 106 (^{106}Rh). Dieses hat eine Halbwertszeit von 36 Sekunden und zerfällt, unter Aussendung von β^- -Strahlung mit einer maximalen Energie von 3,54 MeV und einer mittleren Energie von 1,5 MeV, zu Palladium 106 (^{106}Pd). Durch diese Energie werden die therapeutischen Effekte erzielt. [6, 56, 62, 74, 84]

Die ionisierende Strahlung kann verschiedene biologische Wirkungen auf die Des-

oxyribonukleinsäure (DNS) von Zellen haben. Vor allem eine indirekte Schädigung, welche durch Radiolyse von Wasser und der damit verbundenen Bildung von freien Radikalen erfolgt, kann eine (Tumor-)zelle nachhaltig schädigen. Die direkte Wirkung entsteht durch Wechselwirkung der Radionuklide mit der DNS. Eine Schädigung der DNS hat entweder den sofortigen Zelltod zur Folge oder einen reproduktiven oder klonogenen Zelltod. Zudem sind Mutationen des Erbguts, welche eine karzinogene Wirkung haben können, möglich. Spätfolgen einer Strahlentherapie können eine Permeabilitätssteigerung der Endothelien und darauf folgende Aktivierung von Fibroblasten sein, welche eine Stenosierung der Gefäße mit ischämischer Atrophie des Gewebes zur Folge haben können. [2, 54]

Es existieren verschiedene Applikatoren in diversen Größen und Formen, welche möglichst perfekt für den Tumor ausgewählt werden. So gibt es eingekerbte Applikatoren für Tumoren, welche in der Nähe des Optikusnervs liegen sowie halbmondförmige Applikatoren für anteriore Tumoren. Ebenso werden speziell für das vorliegende Melanom angefertigte Applikatoren entwickelt. Die Applikatoren bestehen aus Silber und absorbieren einen Großteil der Strahlung des Radioisotops, sodass diese kaum in die Umgebung abgegeben wird. ^{106}Ru wird auf einer dünnen Silberschicht auf den Applikator gegeben und noch mit einer weiteren Silberschicht bedeckt, welche jedoch kaum Strahlung absorbiert. Die Applikatoren werden dann auf die Sklera aufgenäht und für etwa zwei bis zehn Tage belassen, bevor sie wieder entfernt werden. Die Applikatoren können dann steril aufbereitet und etwa 18 Monate lang erneut verwendet werden. [23, 6, 62, 73, 74]

Die Leitlinien der „American Brachytherapy Society“ empfehlen eine apikale Dosis von 70 bis 100 Gy, um ausreichende therapeutische Ergebnisse zu erzielen. Je nach Tumordicke müssen dafür Strahlendosen von 300 bis 1500 Gy an der Tumorbasis appliziert werden. [3, 19, 49, 73]

Nach erfolgter Brachytherapie wandelt sich der Tumor klinisch zu einer narbigen

Struktur um. Diese Umwandlung erfolgt zunächst schneller, zieht sich dann aber mit einer langsameren Größenabnahme bis über Monate und Jahre hin. Es resultiert zumeist eine dunkle Masse mit umgebender Narbenstruktur. [34, 59, 105]

Die lokale Rezidivrate nach ^{106}Ru -Brachytherapie liegt bei 2,1 bis 14 % nach fünf Jahren. [19, 71, 108] Ein wichtiger Risikofaktor für ein erneutes Tumorstadium nach ^{106}Ru -Brachytherapie ist eine höhere Tumordicke, vermutlich aufgrund der geringeren Eindringtiefe der Strahlung, weshalb für Tumoren größer als 7 mm eventuell die Bestrahlungsdosis erhöht werden oder auch eine Bestrahlung mit ^{125}I erfolgen sollte. [29, 49, 80] Die unterschiedlichen Rezidivraten könnten auch auf unterschiedliche standardisierte Vorgehensweisen der behandelnden Zentren bezüglich der Tumordicke zurückzuführen sein. [29, 73] Ob ein Zusammenhang zwischen der applizierten Dosisrate und dem erneuten Wachstum des Tumors besteht, wird in der Literatur unterschiedlich beschrieben. [19, 29, 68, 73, 105, 108] Eine sekundäre Enukleation erfolgt nach fünf Jahren in bis zu 20 % der bestrahlten Fälle. [29, 85, 102] In 60 bis 75 % dieser Fälle erfolgt die sekundäre Enukleation aufgrund eines Tumorstadiums, welches sich durch eine Vergrößerung des Tumors oder Veränderungen des sonografischen Echomusters zeigt, in 21 bis 30 % wegen radiogen induzierter, nicht tolerierbarer Nebenwirkungen. [26, 29, 102]

Nebenwirkungen nach einer Brachytherapie treten nach zwei Jahren in 40 bis 50 % und nach fünf Jahren in bis zu 65 % der brachytherapierten Fälle auf. [102, 108] Das Auftreten hängt von verschiedenen Faktoren ab, wie zum Beispiel der Tumorstöße, der applizierten Dosis und der vom Tumor betroffenen bzw. ihm nahe liegenden Strukturen. [112] Liegt der Tumor in der Nähe der Iris oder des Ziliarkörpers, ist das Auftreten einer Strahlenkatarakt (21 bis 37 %) sowie eines neovaskulären Glaukoms (7 bis 19 %) häufiger als ohne Beteiligung dieser Strukturen. [31] Dafür treten aber auch weniger Nebenwirkungen des posterioren Segments, wie eine radiogene Makulopathie (29 bis 30 %) oder Neuropathie (12 %) auf, welche bei der Bestrahlung choroidaler

Uveamelanome häufiger auftreten. [40, 74] Weitere mögliche Komplikationen nach einer Radiotherapie sind Glaskörperblutungen (26 %) sowie retinale Gefäßverschlüsse (17 %). [8, 80, 102]

2 Ziele der Arbeit

Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie sollten die Auswirkungen von zuvor durchgeführter therapeutischer Brachytherapie mit Ruthenium 106 (^{106}Ru) auf die Histopathologie von Uveamelanomen beschrieben werden. Da in den letzten Jahrzehnten ein Wechsel des üblichen Therapieregimes von chirurgisch enukleierender Therapie hin zu bulbuserhaltender Therapie stattgefunden hat, ist eine histopathologische Untersuchung von diesen Melanomen mittlerweile eher nur noch selten möglich.

Durch die Radiotherapie von Tumoren sollen gewebezerstörende Prozesse einsetzen, welche zur Schrumpfung bzw. Elimination von Tumorgewebe führen. Mit dieser retrospektiven Studie sollte untersucht werden, ob sich diese Prozesse in vorliegenden Gewebepreparaten morphologisch effektiv nachweisen lassen.

Zudem sollte die Frage geklärt werden, ob ein dosisabhängiger Unterschied der morphologischen Merkmale zwischen den der Bestrahlungsquelle direkt anliegenden sowie den weiter entfernt liegenden Bereichen innerhalb eines Tumors zu erkennen ist. Zusätzlich sollten frühe und späte histomorphologische Reaktionen auf die Brachytherapie identifiziert werden.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Bei der hier vorliegenden Studie handelt es sich um eine retrospektive Studie am Archivmaterial des Instituts für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock. Die Studie wurde nach den Vorgaben der Deklaration von Helsinki durchgeführt und durch die Ethikkommission der Universitätsmedizin Rostock angenommen (Nr. A2015-0171). In die Untersuchung eingeschlossen wurden insgesamt 43 Bulbusenukleate mit Melanomen der Choroidea, der Iris sowie des Ziliarkörpers, welche zwischen Januar 2000 und Dezember 2013 im Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock histologisch aufgearbeitet und untersucht wurden.

Aus den insgesamt 43 Tumorproben wurden im Sinne einer Fall-Kontroll-Studie zwei Gruppen gebildet. Die Gruppe der 14 zuvor brachytherapierten histologischen Tumorproben (Fallgruppe) wurde somit einer Gruppe von 29 zuvor nicht brachytherapierten Kontrollen (Kontrollgruppe) zugeordnet.

Die 29 Bulbusenukleate der Kontrollgruppe waren durch primäre chirurgische Therapie gewonnen, die 14 Augen der Fallgruppe nach primärer brachytherapeutischer Behandlung sekundär enukleiert worden.

Die 29 Patienten bzw. die Uveamelanome der Kontrollgruppe wurden so ausgewählt, dass sie bei den Eigenschaften Alter, Geschlecht, Zelltyp, Lokalisation, Tumorprominenz und größtem Tumordurchmesser keine signifikanten Unterschiede zu den 14 Patienten bzw. Tumoren der Fallgruppe aufwiesen. [43]

Die klinischen ophthalmologischen Befunde wurden den freundlicherweise zur Verfügung gestellten Arztbriefen der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Rostock entnommen und tabellarisch erfasst. Fehlende Befunde wurden, wenn möglich, durch persönliche Rücksprache mit den Klinikmitarbeitern

erfragt. Dabei wurden demografische Angaben der Patienten erfasst. Außerdem wurden klinische Details des Tumors verzeichnet, welche u.a. durch ophthalmologische Untersuchungen erhoben wurden, wie Seitenangabe, Prominenz, größte laterale Ausdehnung, die Tumorausbreitung und das Zeitintervall zwischen der Durchführung der Brachytherapie und der sekundären Enukleation.

3.2 Histopathologische Methoden und Untersuchungen

3.2.1 Aufbereitung der Proben

Es wurden formalinfixierte und in Paraffin eingebettete Blockpräparate der Bulbuse-nukleate des Archivs des Instituts für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock, welche bereits für die reguläre Diagnostik angefertigt worden waren, zur weiteren histologischen sowie immunhistochemischen Untersuchung verwendet. Von diesen wurden für diese Studie 2 – 3 µm dicke Schnitte angefertigt, welche durch Hämatoxylin-Eosin (HE) sowie Periodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) angefärbt wurden. Anschließend wurden ausreichend Leerschnitte für die zusätzlichen immunhistochemischen Untersuchungen angefertigt.

3.2.2 Histopathologische Untersuchungen

In dieser retrospektiven Studie wurden die Gewebeproben an neu angefertigten Gewebsschnitten mikroskopisch untersucht. Dabei wurde wie folgt vorgegangen: Die Tumoren wurden histologisch in spindelzellige, epitheloidzellige oder gemischtzellige Tumoren eingeteilt. Zudem wurden die Proben auf Hinweise einer eventuellen Regression des Tumors untersucht, genauer auf Kernschwellungen, Pyknosen, Karyorrhexis, die Anzahl an Mitosen, die Proliferationsstärke, Zytoplasmaödeme, Nekrosen, Fibrosierungen, Entzündungen, Gefäßveränderungen und das Vorkommen von Makrophagen. Dafür wurden jeweils zehn Gesichtsfelder pro Lokalisation ausgewertet.

Die Gefäßdichte wurde bei 20-facher Vergrößerung untersucht.

Die untersuchten Merkmale wurden nach einer Studie von Klaus et al. (1991) [52], Heindl et al. (2007) [43] sowie der Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) (2008) [7] ausgewählt. In diesen Studien wurden ebenfalls nach Brachytherapie enukleierte sowie primär enukleierte Uveamelanome auf verschiedene histologische Merkmale verglichen. Zusätzlich wurden in der vorliegenden Arbeit noch weitere Merkmale gewählt, welche ebenfalls regressive Veränderungen darstellen können. In einer Studie von Wittekind et al. (2003) [113] wurden zusätzliche histologische Merkmale, welche bei präoperativ radiochemotherapierten rektalen Karzinomen auftraten, beschrieben.

Für die Bewertung der histologischen Merkmale der Präparate unserer Studie wurde das Schema der Tab. 5 angelegt.

Zur Berechnung des Mitoseindexes wurde das histologische Präparat bei 40-facher Vergrößerung betrachtet (Gesichtsfeld $0,2 \text{ mm}^2$) und im Areal mit den meisten Mitosen im jeweils untersuchten Abschnitt die vorhandenen Mitosen ausgezählt. Ebenso wurde bei der Bestimmung des Proliferationsindexes vorgegangen, wobei dieser mit der abgewandelten Kreisformel, genauer folgender Formel berechnet wurde:

$$\text{Proliferationsindex [\%]} = \frac{100 \cdot y}{x^2 \cdot 0,785}$$

wobei x die Anzahl aller Zellen in der Zeile des größten Durchmessers und y die Anzahl der Ki67-positiven Zellen ist.

Aus den einzelnen Werten der Proliferationsfraktion für Tumorbasis, -mitte und -spitze wurde für jeden Fall der Mittelwert gebildet, welcher dann in der statistischen Auswertung berücksichtigt wurde. Ebenso erfolgte eine Bildung des Mittelwertes bei dem Merkmal „Nekrosen“.

Tabelle 5: Untersuchte histologische und immunhistochemische Merkmale

histologische/ immunhistochemische Merkmale	
Nekrosen	vorhanden/nicht vorhanden und 0; > 0 - 25; > 25 - 50; > 50 - 75; > 75 - 100 (jeweils in %)
Fibrosierung	vorhanden/nicht vorhanden
Gefäßwandfibrose	vorhanden/nicht vorhanden
Mitosen	keine; wenige (1 - 2 pro HPF); mehrere (> 2 pro HPF)
Proliferationsindex	0 - 0,1; > 0,1 - 25 (jeweils in %)
Entzündung	vorhanden/nicht vorhanden
Makrophagen	keine/gering/mäßig/stark
Retinadegeneration	vorhanden/nicht vorhanden
Kernschwellungen	vorhanden/nicht vorhanden
Kernpyknosen/Karyorrhexis	vorhanden/nicht vorhanden
Zytoplasmaödem	vorhanden/nicht vorhanden
Gefäßdilatation	vorhanden/nicht vorhanden
Gefäßdichte	0 - 10; > 10 - 20; > 20 (jeweils in pro HPF)

3.2.3 Immunhistochemische Untersuchungen

Es wurden immunhistochemische Untersuchungen mit Antikörpern gegen CD34 (Klon QBEnd10, DAKO Germany GmbH, 20 Minuten bei 97 °C und pH 9), CD68 (Klon PG-M1, DAKO Germany GmbH, 20 Minuten bei 97 °C und pH 9) sowie Ki67 (Klon Mib-1, DAKO Germany GmbH, 1:500, 20 Minuten bei 97 °C und pH 9) durchgeführt. Als Detektionssystem wurde der Autostainer Link 48 mit dem EnVision™ FLEX-Kit von der DAKO Germany GmbH verwendet.

3.2.4 Einteilung der Tumorabschnitte

Bei der Brachytherapie ist ein Dosisgradient über die Tumorfläche gegeben, welcher von der Basis bis zur Spitze steil abfällt. Um die möglichen histomorphologischen Effekte der Brachytherapie in Abhängigkeit des Dosisgradienten darstellen zu können, wurden, sofern dies möglich war, für den jeweiligen untersuchten Tumor der Fallgruppe die histomorphologischen Merkmale im basalen, zentralen und apikalen Tumorkompartiment untersucht und verglichen (vgl. Abb. 1). Die Einteilung in diese Bereiche wurde bereits in einer Studie von Klaus et al. (1991) ähnlich vorgenommen.[52]

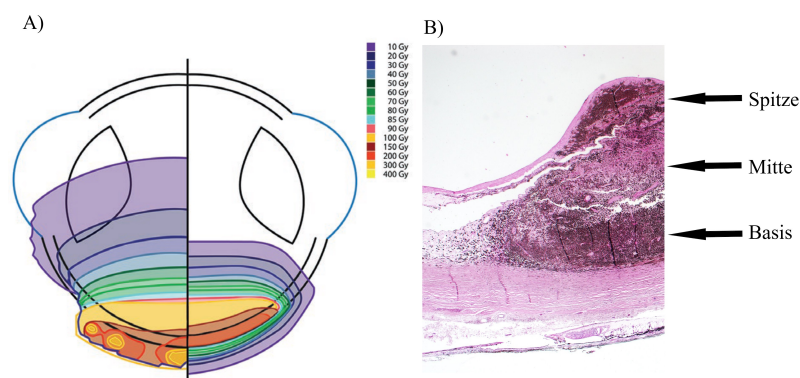


Abbildung 1: A) Vergleich der Dosisverteilungen zweier Applikatoren mit je 18 mm Durchmesser Größe. Die geplante apikale Strahlendosis betrug 85 Gy (links ^{125}I , rechts ^{106}Ru), aus [23] B) schematische Dosisverteilung innerhalb eines Tumors

3.2.5 Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale

Es wurde untersucht, ob das Vorhandensein bzw. die Stärke der Ausprägung eines untersuchten histomorphologischen Merkmals zeitlich korreliert war. Die Fälle wurden dafür, in Anlehnung an eine Studie von Gragoudas et al. (1993) [36], anhand des zeitlichen Intervalls zwischen durchgeführter Brachytherapie und sekundärer Enukleation, in drei Gruppen eingeteilt. Die histomorphologischen Merkmale wurden dann zum Zeitintervall korreliert. Die Trennwerte zwischen früher, mittlerer und später Reaktion wurden definiert mit 9 und 24 Monaten. Die Merkmalsausprägung wurde nach Tab. 5 eingeteilt.

3.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung aller Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie ihre grafische Darstellung erfolgten mit dem Programm IBM SPSS Statistics, Version 22.0.

Bei nicht normalverteilten Merkmalen wurde der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben verwendet. Mithilfe dieses Tests sowie dem Exakten Test von Fisher wurden die beiden untersuchten Gruppen hinsichtlich ihrer Homogenität getestet. [43] Ob eine normalverteilte Variable vorlag, wurde gegebenenfalls zuvor durch den Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft.

Bei den ermittelten Befunden der histologischen Merkmale wurde mithilfe eines Tests zur Prüfung der Signifikanz untersucht, ob die Unterschiede zwischen den Gruppen „brachytherapierte Fälle“ und „nicht brachytherapierte Kontrollen“ signifikant waren. Dafür wurde grundsätzlich der Chi Quadrat Test genutzt, sofern mehr als 20 % der erwarteten Häufigkeiten in den einzelnen Zellen größer als 5 waren. War dies nicht der Fall, wurde der Exakte Fisher Test verwendet. Dieser wurde ebenfalls zur Korrelation der histopathologischen Merkmale zum Zeitintervall verwendet.

Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha = 0,05$ festgelegt.

Durch den Kruskal-Wallis-Test sowie den Mann-Whitney-U-Test wurden die einzelnen Tumorabschnitte „Basis“, „Mitte“ und „Spitze“ innerhalb der brachytherapierten Gruppe miteinander auf signifikante Unterschiede verglichen. Es wurde also untersucht, ob, je nach Strahlendosis, welche den jeweiligen Tumorbereich noch erreichte, ein signifikanter Unterschied der histologischen Merkmale vorlag. Zuerst wurde geprüft, ob ein Unterschied in der Ausprägung eines solchen Merkmals zwischen allen Bereichen bestand und anschließend, ob ein Unterschied zu erkennen war, wenn jeweils nur zwei dieser Lokalisationen miteinander verglichen wurden. Die Varianzgleichheit der Daten wurde dafür zuvor durch den Levene-Test überprüft.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

In die Studie eingeschlossen wurden 43 Bulbusenukleate. 14 Gewebepreparate waren zuvor brachytherapeutisch bestrahlt worden, 29 nicht. Abb. 2 zeigt das makroskopische Bild eines Aderhautmelanoms, Abb. 3 eine mikroskopische Übersichtsaufnahme und Abb. 4 eine stärker vergrößerte Aufnahme. Grundlegende klinische sowie histologische Daten sind in Tab. 6 aufgeführt. Neun der Tumoren betrafen mehrere Lokalisationen. Ein Tumor der Fallgruppe zeigte keine vitalen Zellen mehr, weshalb die Einteilung des Zelltyps nicht möglich war.

Abb. 5 stellt den zeitlichen Abstand zwischen primärer Brachytherapie und sekundärer Enukleation dar. Die Hälfte der Bulbi wurde zwischen 8 und 24 Monaten nach Bestrahlung enukleiert. Der minimale zeitliche Abstand betrug 2 Monate und der maximale 109 Monate. Der Median lag bei 12,50 Monaten nach Bestrahlung. Gründe für die sekundäre Enukleation waren in drei Fällen keine erkennbare Tumorregredienz, in neun Fällen erneutes Tumorwachstum und in zwei Fällen wurde die sekundäre Enukleation aufgrund von nicht tolerierbaren Nebenwirkungen durchgeführt, genauer dem Auftreten eines Neovaskularisationsglaukoms bzw. einer Strahlenkatarakt.

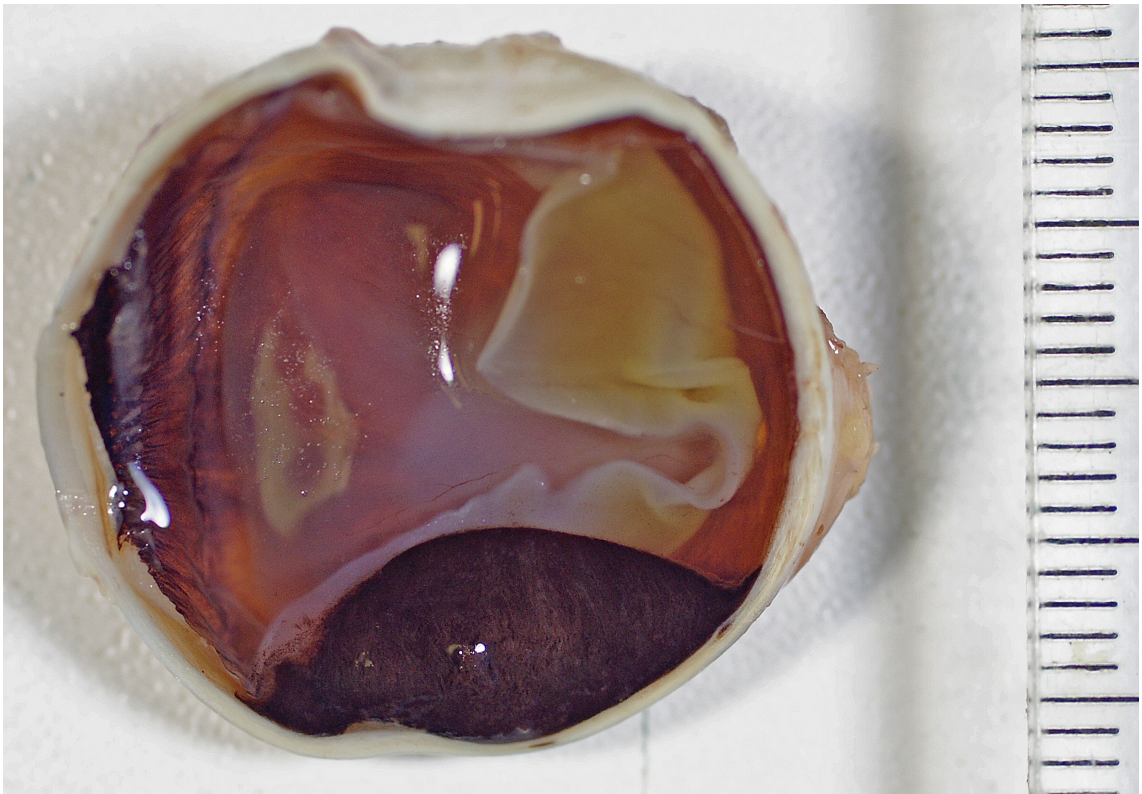


Abbildung 2: Makroskopisches Bild eines Aderhautmelanoms

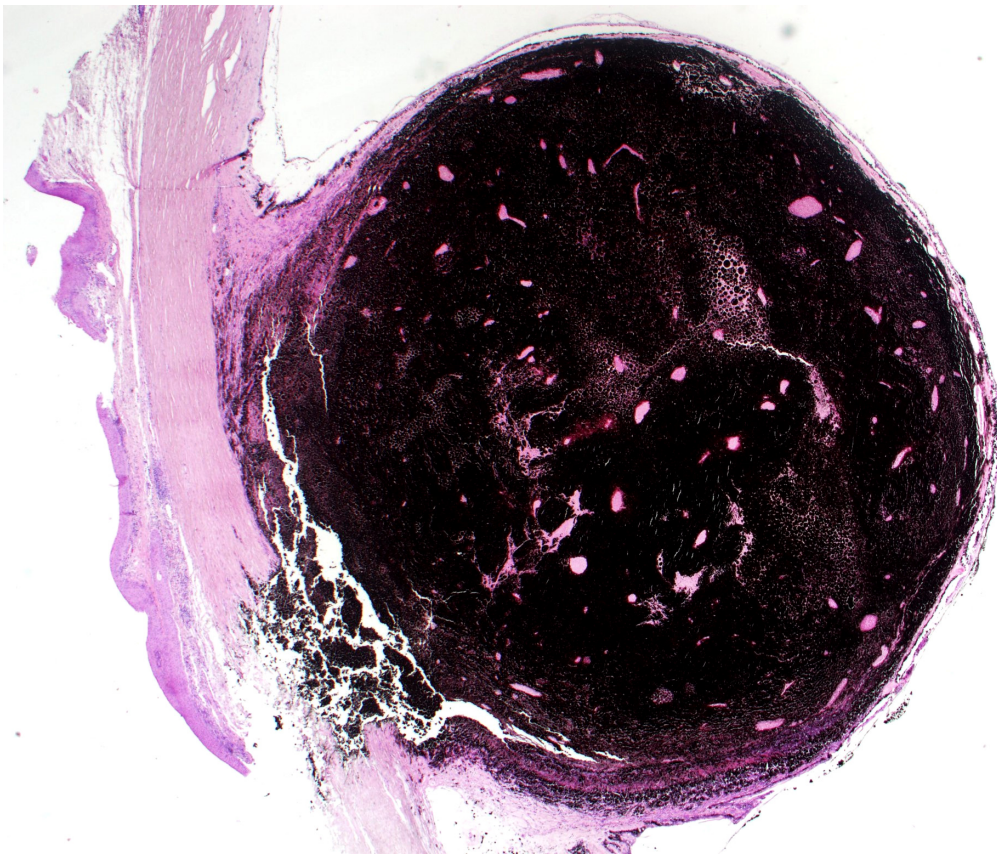


Abbildung 3: Mikroskopische Übersichtsaufnahme eines stärker regressiv veränderten gemischtzelligen malignen Melanoms der Choroidea, 2-fache Vergrößerung

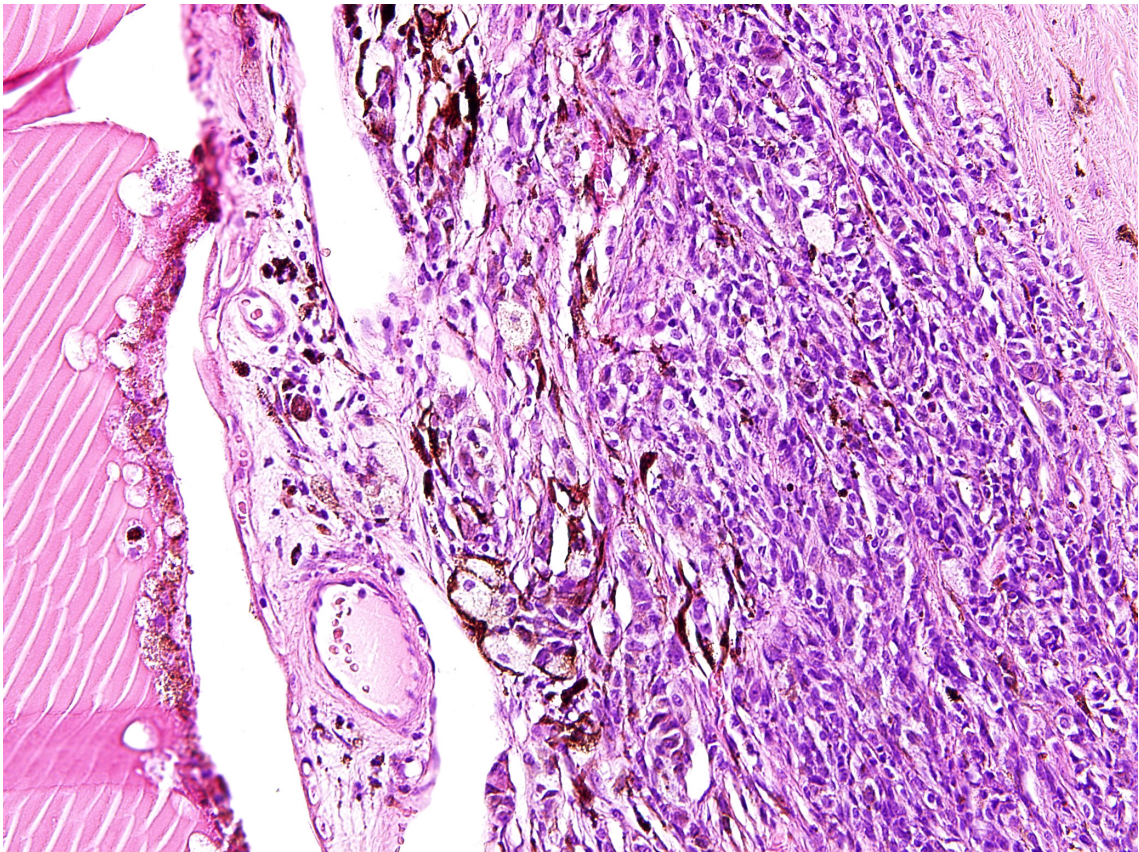


Abbildung 4: Mikroskopische Aufnahme eines gemischtzelligen malignen Melanoms der Aderhaut, 20-fache Vergrößerung

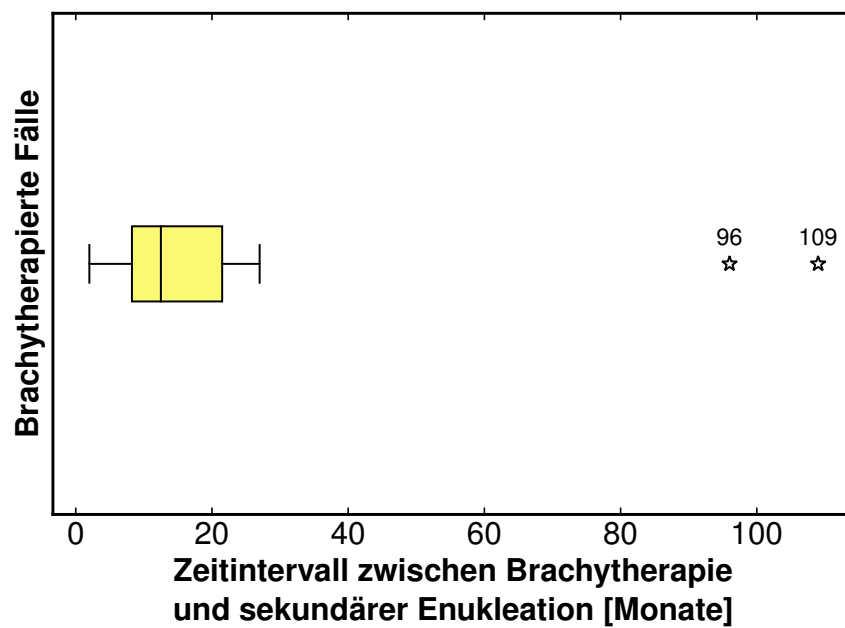


Abbildung 5: Zeitintervall zwischen Brachytherapie und sekundärer Enukleation

Tabelle 6: Überblick über das Patientenkollektiv

		Brachytherapie	keine Brachytherapie
Anzahl		14	29
Alter [Jahre] ^{1,2}		66,21 (11,295)	66,62 (11,378)
Geschlecht	w	7	14
	m	7	15
Lokalisation	Choroidea	10	23
	Iris	0	0
	Ziliarkörper	1	0
	Choroidea + Ziliarkörper	2	4
	Iris + Ziliarkörper	1	1
	Choroidea + Iris + Ziliarkörper	0	1
Seite	links	7	16
	rechts	7	13
Zelltyp	epitheloidzellig	3	5
	spindelzellig	4	10
	gemischtzellig	6	14
	nicht auswertbar	1	0
Tumorprominenz [mm] ²		10,250 (3,5123)	11,690 (3,1294)
größter Tumordurchmesser [mm] ²		4,808 (2,6024)	6,889 (3,5824)
¹ Alter bei histologischer Untersuchung; ² jeweils MW (SD)			

4.2 Histopathologische Untersuchungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 43 Resektate der menschlichen Aderhaut, welche durch Operationen der betroffenen Patienten erhalten wurden, histologisch untersucht. 14 dieser Patienten waren in der Zeit vor der Operation durch Brachytherapie behandelt worden, die restlichen 29 Patienten nicht. Um herauszufinden, welche histologischen bzw. immunhistochemischen Merkmale von Uveamelanomen sich durch eine brachytherapeutische Behandlung verändern, wurden die untersuchten Gewebeproben im Sinne einer Fall-Kontroll-Studie miteinander hinsichtlich diverser solcher Merkmale verglichen und geprüft, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen besteht. Bei vier Präparaten der Fallgruppe konnten nicht alle Merkmale bewertet werden, da der Tumor entweder komplett regredient war oder eine sehr starke Pigmentierung aufwies, was eine adäquate Bewertung nicht zuließ. Ein signifikanter Unterschied konnte bei fünf Parametern festgestellt werden, genauer bei den Merkmalen „Nekrosen“, „Gefäßwandfibrose“, „Proliferationsfraktion“, „Entzündung“ und „Makrophagen“. Bei den anderen histologischen bzw. immunhistochemischen Merkmalen konnte hingegen kein signifikanter Unterschied im Sinne des hier definierten Signifikanzniveaus festgestellt werden.

4.2.1 Nekrosen

Die Abb. 6 zeigt in einem Balkendiagramm durch die linken Balken die Anzahl (n) der Tumorpräparate, bei denen Nekrosen zu erkennen waren und durch die rechten Balken die Anzahl, bei denen keine zu erkennen waren. Farblich türkis dargestellt sind die Tumoren, welche zuvor nicht brachytherapeutisch behandelt wurden, gelb die Tumoren der Fallgruppe.

Tumoren, welche zuvor brachytherapeutisch behandelt wurden, wiesen signifikant häufiger nekrotische Areale auf als Tumoren, welche bislang keine solche Therapie erhalten hatten ($p = 0,007$). In 10,3 % der Fälle der Kontrollgruppe wurden überhaupt Nekrosen gefunden, bei der Fallgruppe war dies bei der Hälfte der Tumoren der Fall (vgl. Abb. 6).

Wie in Abb. 7 zu erkennen ist, zeigten 14,3 % der Tumoren der Fallgruppe Nekroseareale von mehr als 75,0 % der Gesamtfläche, bei der Kontrollgruppe war dies bei 3,4 % der Fall ($p = 0,020$).

In dem untersuchten malignen Uveamelanom in der Abb. 8 zeigen sich starke Nekroseareale.

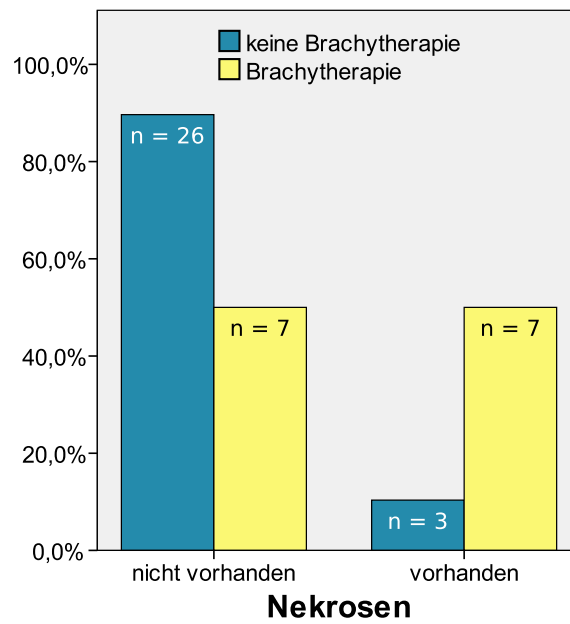


Abbildung 6: Balkendiagramm Nekrosen

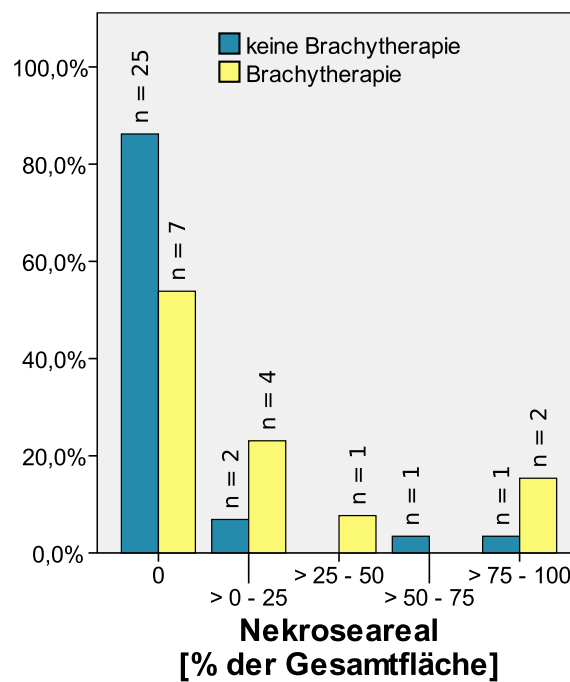


Abbildung 7: Balkendiagramm Nekroseareal

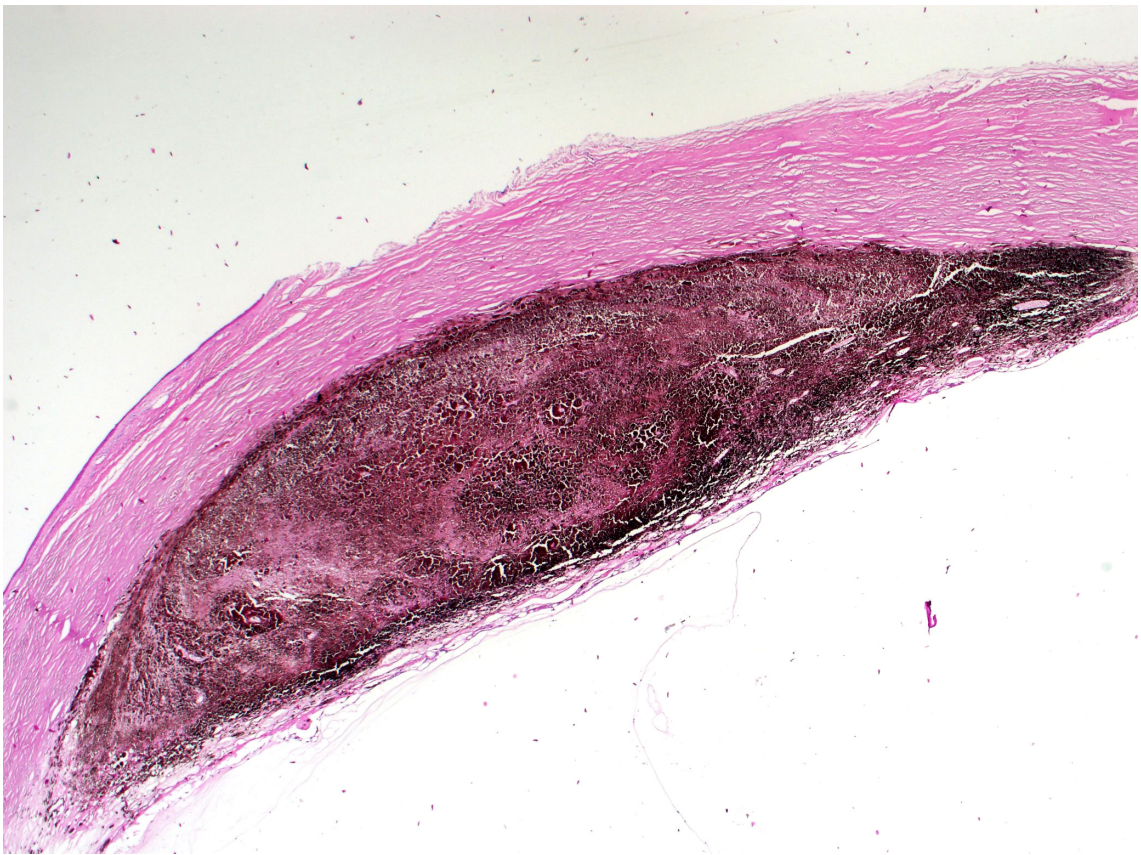


Abbildung 8: Stark nekrotisches, spindelzelliges malignes Uveamelanom; 2-fache Vergrößerung

4.2.2 Fibrosierung

Bei der zuvor brachytherapierten Gruppe zeigten 64,3 % der Tumoren Fibrosierungen, im Gegensatz dazu zeigten nur 37,9 % der nicht brachytherapierten Gruppe dieses Merkmal (vgl. Abb. 9). Ein signifikanter Unterschied ergibt sich jedoch nicht ($p = 0,104$).

Abb. 10 zeigt ein malignes Melanom mit Fibrosierungen im Tumorgewebe.

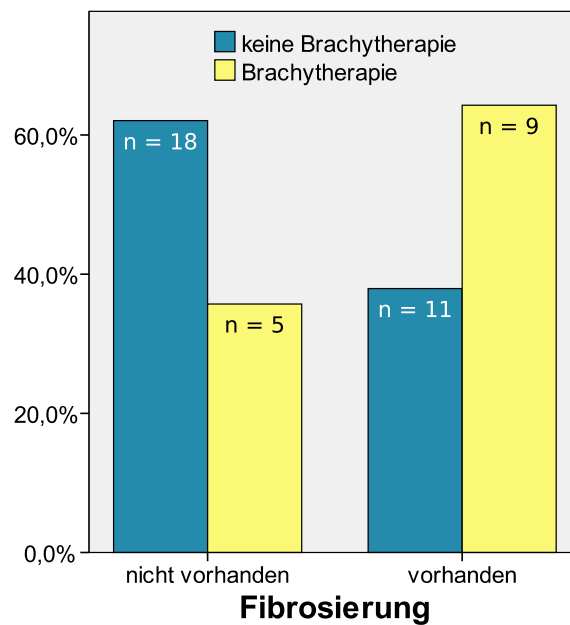


Abbildung 9: Balkendiagramm Fibrosierung

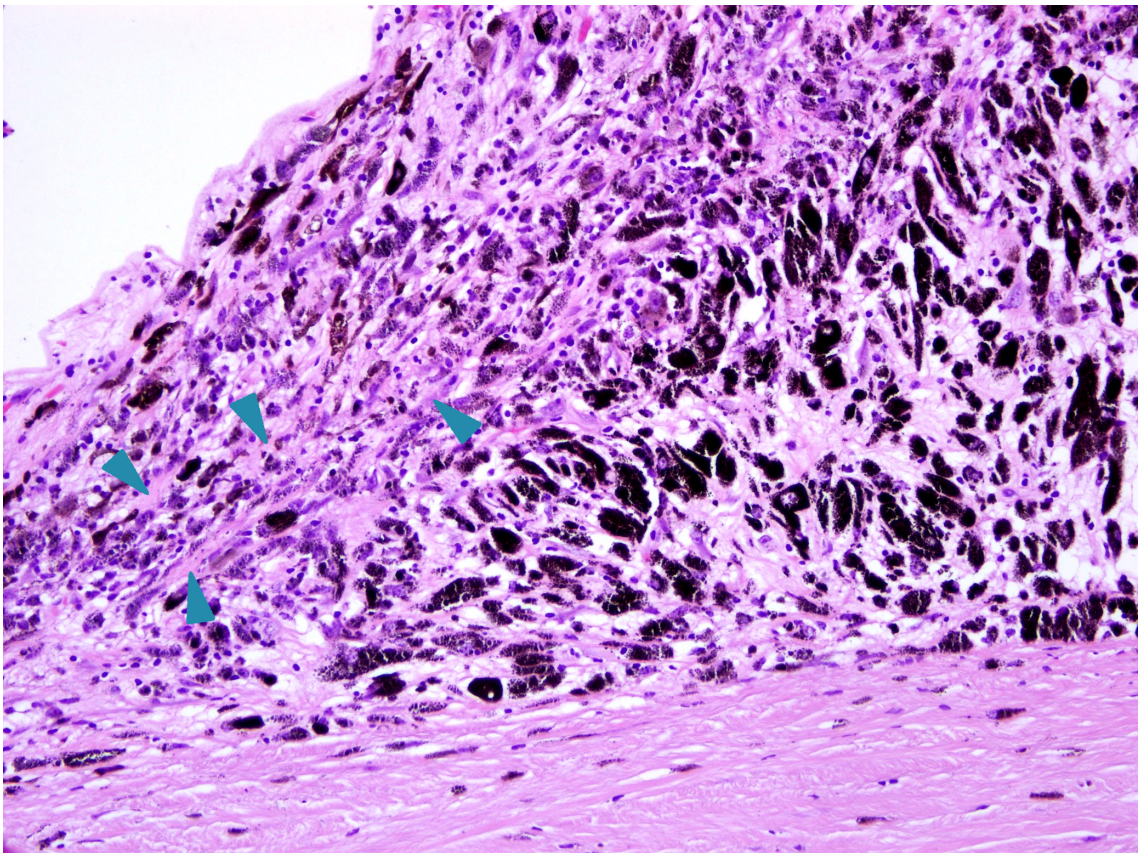


Abbildung 10: Gemischtzelliges malignes Melanom der Aderhaut, 20-fache Vergrößerung; die Pfeilspitzen deuten auf Fibrosierungen im Gewebe

4.2.3 Gefäßwandfibrose

Bei der statistischen Untersuchung der Gefäßwandfibrose als signifikantes histologisches Unterscheidungsmerkmal zwischen brachytherapierten und nicht brachytherapierten Uveamelanomen zeigte sich, dass innerhalb der erstgenannten Gruppe das Vorhandensein der Gefäßwandfibrose dominierte (78,6 %), wohingegen es in der letzteren Gruppe nur bei 37,9 % der Tumoren vorlag (vgl. Abb. 11). Der p-Wert von 0,012 spricht für einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Abb. 12 zeigt mehrere dickwandige, fibrosierte Gefäße im Präparat.

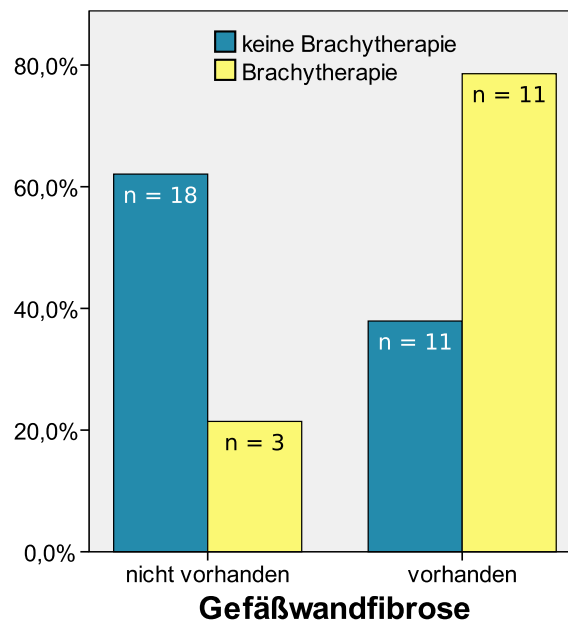


Abbildung 11: Balkendiagramm Gefäßwandfibrose

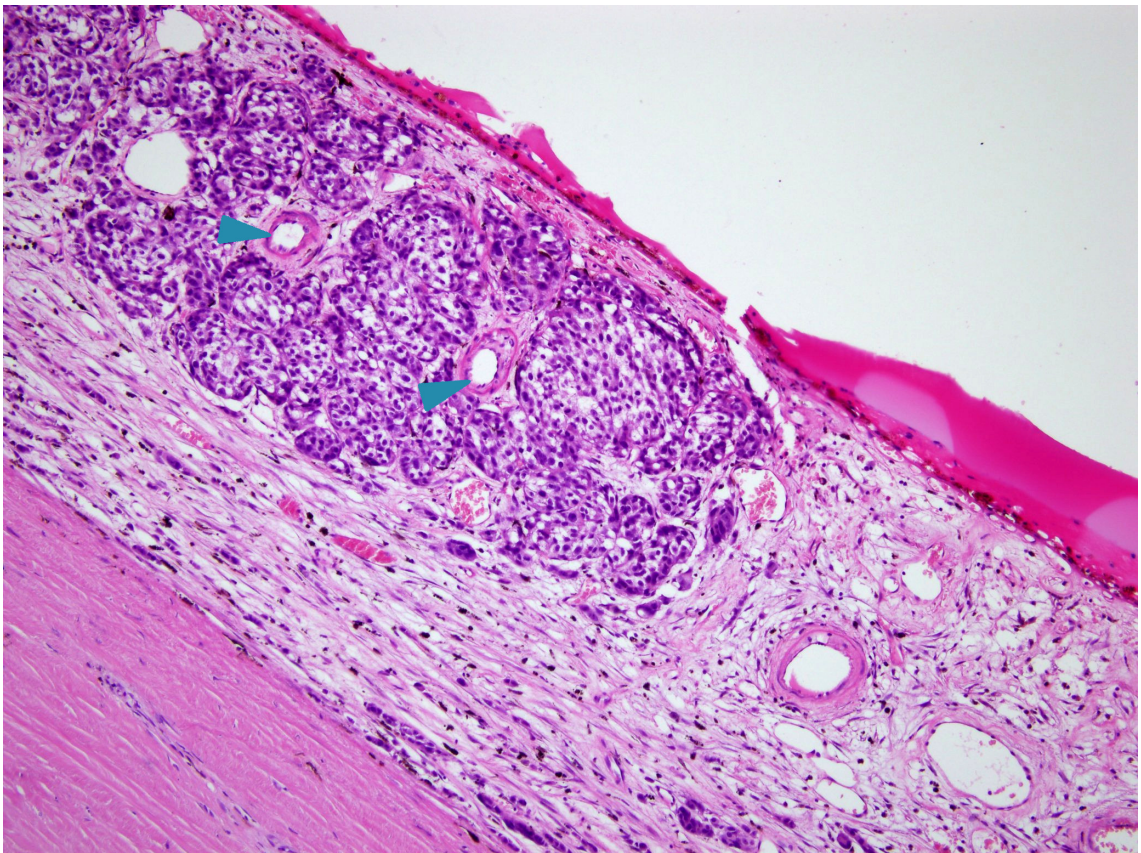


Abbildung 12: Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut, 10-fache Vergrößerung; die Pfeile deuten auf fibrosierte Gefäße

4.2.4 Mitosen

Mitosen zeigten sich bei 30,8 % der brachytherapierten Tumoren, ähnlich wie bei den nicht brachytherapierten Tumoren mit 34,5 %. Ein Präparat der Fallgruppe zeigte jedoch mehr als zwei Mitosen pro HPF, dies war bei keinem Präparat der Kontrollgruppe der Fall (vgl. Abb. 13). Ein signifikanter Unterschied besteht nicht ($p = 0,336$). Ein Präparat der Fallgruppe zeigte eine komplette Tumorregression, so dass der Fall bezüglich der Mitosen nicht auswertbar war.

In Abb. 14 sind drei in Mitose befindliche Tumorzellen zu erkennen.

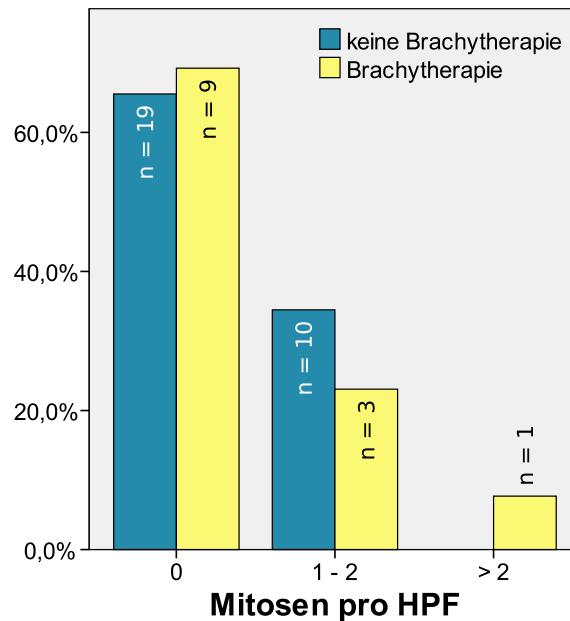


Abbildung 13: Balkendiagramm Mitosen pro HPF

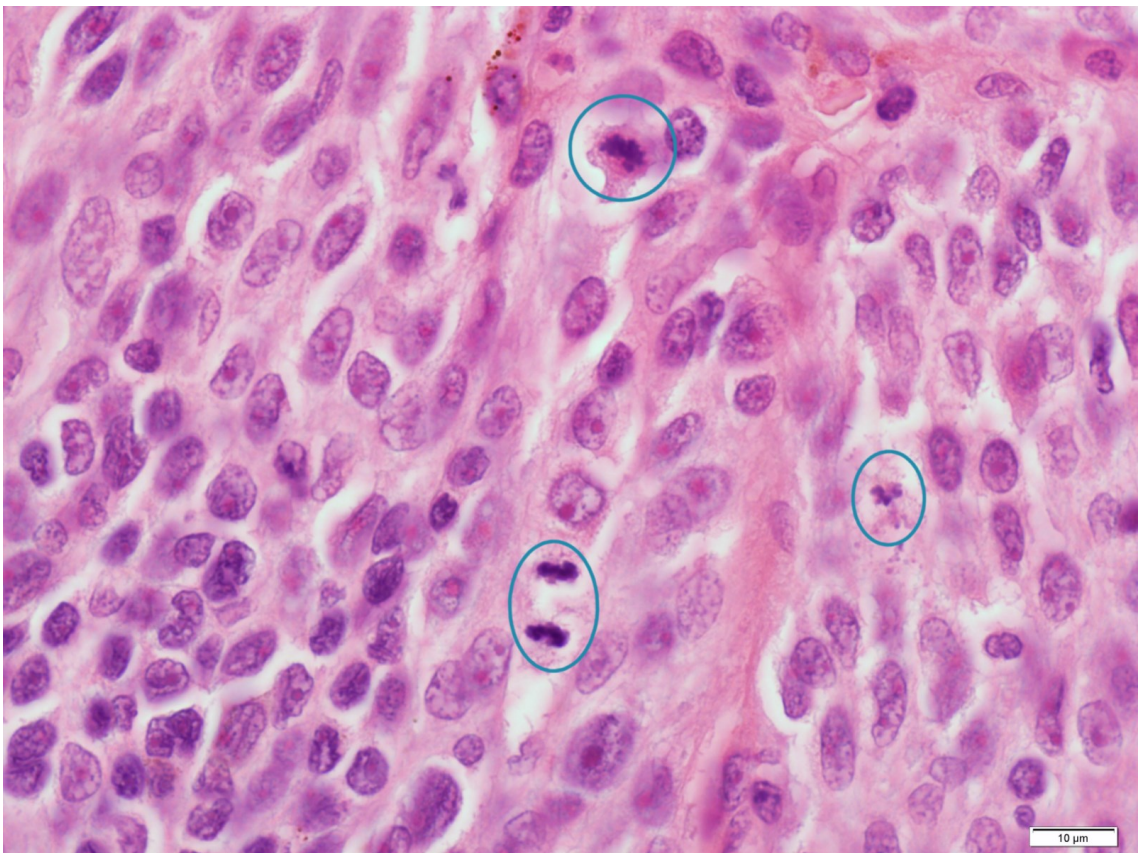


Abbildung 14: Malignes Aderhautmelanom mit drei Mitosen (s. Kreise), 100-fache Vergrößerung

4.2.5 Proliferationsindex

Die Proliferation, welche über das Ki67-Protein gemessen wurde, war bei brachytherapierten Uveamelanomenen geringer als bei nicht brachytherapierten. Bei einem Viertel der Tumoren der Fallgruppe wurde eine Proliferationsfraktion von weniger als 0,1 % gemessen. Die Tumoren der Kontrollgruppe zeigten jedoch alle eine Proliferationsfraktion von mehr als 0,1 % der gesamten Tumorphäche (vgl. Abb. 15). Dieser Unterschied zwischen den Gruppen war mit einem p-Wert von 0,021 signifikant. Zwei Präparate der Fallgruppe konnten aufgrund zu starker Pigmentierung nicht ausgewertet werden.

Unterteilt man die Fallgruppe noch in Sekundärenukleationen aufgrund eines Tumorrezidivs bzw. aufgrund anderer Ursachen, wie ausbleibende Größenabnahme des Tumors und Nebenwirkungen, zeigt sich, dass 85,7 % der Fälle, die nach Brachytherapie ein Rezidiv entwickelten, eine Proliferationsfraktion von mehr als 0,1 % der Gesamtfläche zeigten ($p = 0,376$). Bei den Fällen, welche aufgrund von anderen Gründen sekundär enukleiert wurden, war dies bei 60 % der Fall ($p = 0,023$). Somit war bei den Präparaten mit angenommenem Tumorrezidiv häufiger eine höhere Proliferationsfraktion zu erkennen, dieser Unterschied zu der Gruppe ohne Rezidiv war jedoch nicht signifikant ($p = 0,523$, vgl. Abb. 16).

Die Abb. 17 zeigt ein Präparat mit Anfärbung des Ki67-Antigens. Das vorliegende Melanom weist eine Proliferationsfraktion von etwa 20 % auf.

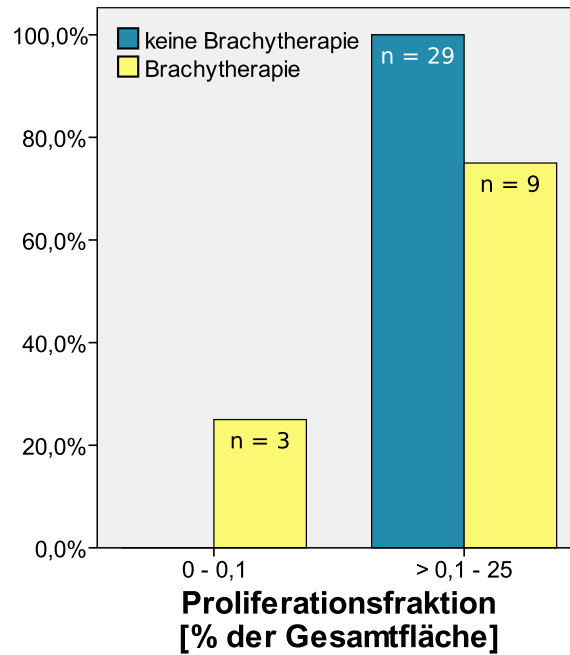


Abbildung 15: Balkendiagramm Proliferationsfraktion

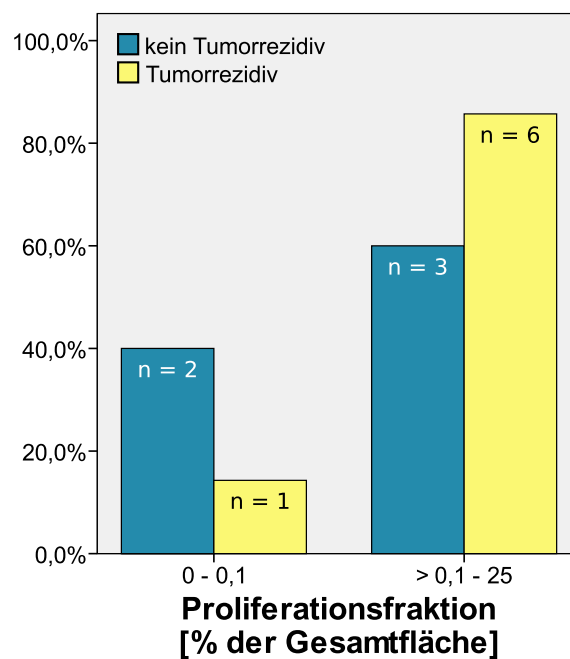


Abbildung 16: Balkendiagramm Proliferationsfraktion je nach Vorliegen eines Tumorrezidivs

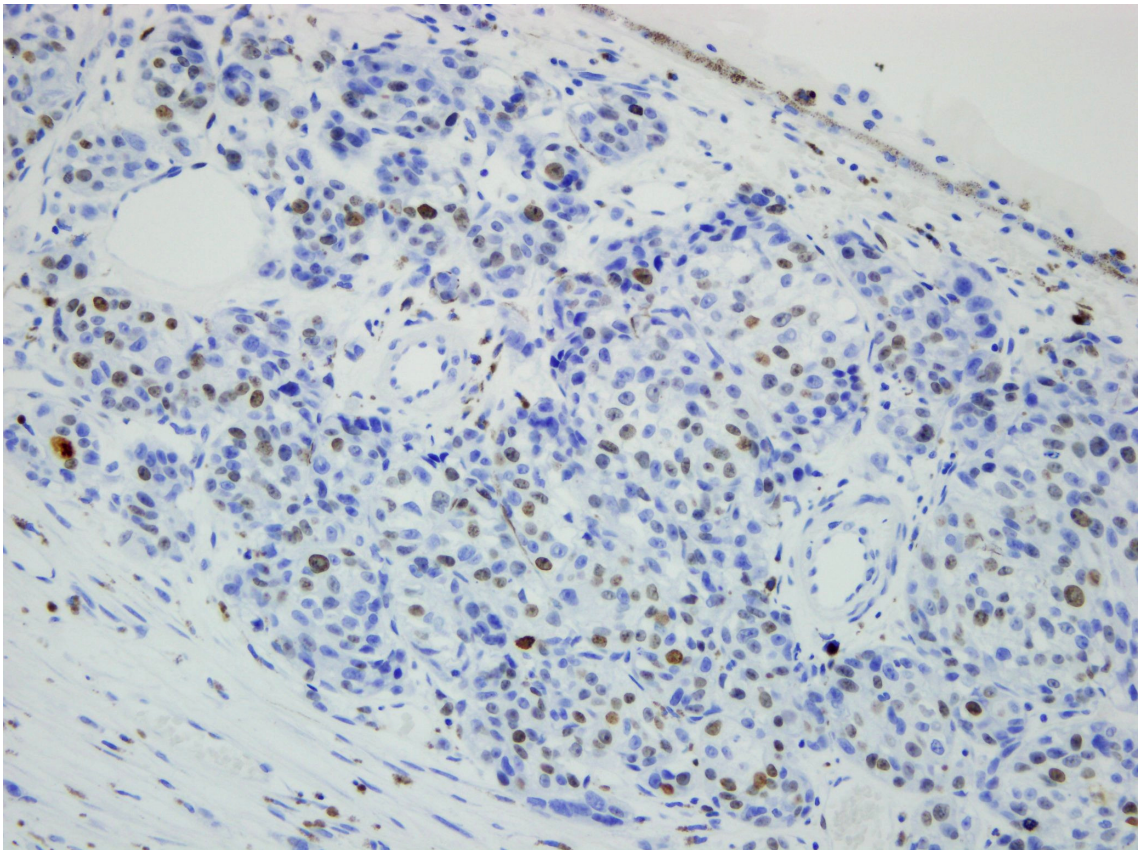


Abbildung 17: Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut mit immunhistochemischer Anfärbung des Ki67-Antigens zur Messung der Proliferationsfraktion, 20-fache Vergrößerung

4.2.6 Entzündung

Das Merkmal „Entzündung“ ist bei der Fallgruppe signifikant häufiger ausgeprägt als bei der Kontrollgruppe ($p = 0,003$). In Ersterer zeigten 71,4 % der Tumoren Entzündungszeichen, in Letzterer hingegen nur 24,1 % (vgl. Abb. 18).

Die Abb. 19 zeigt Zeichen einer Entzündung.

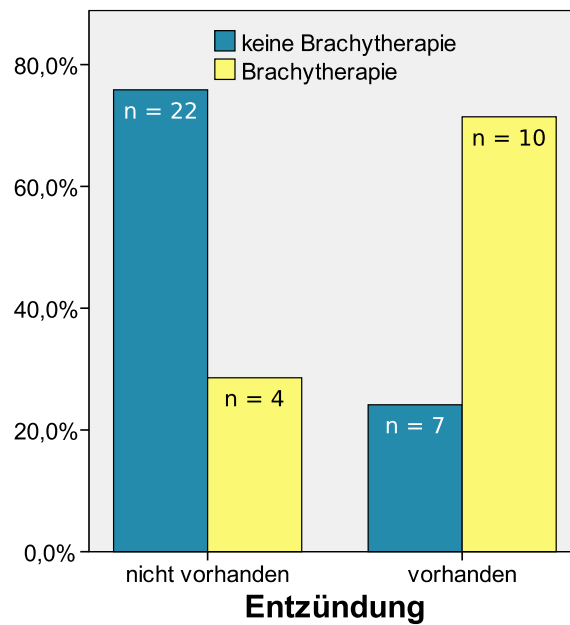


Abbildung 18: Balkendiagramm Entzündung

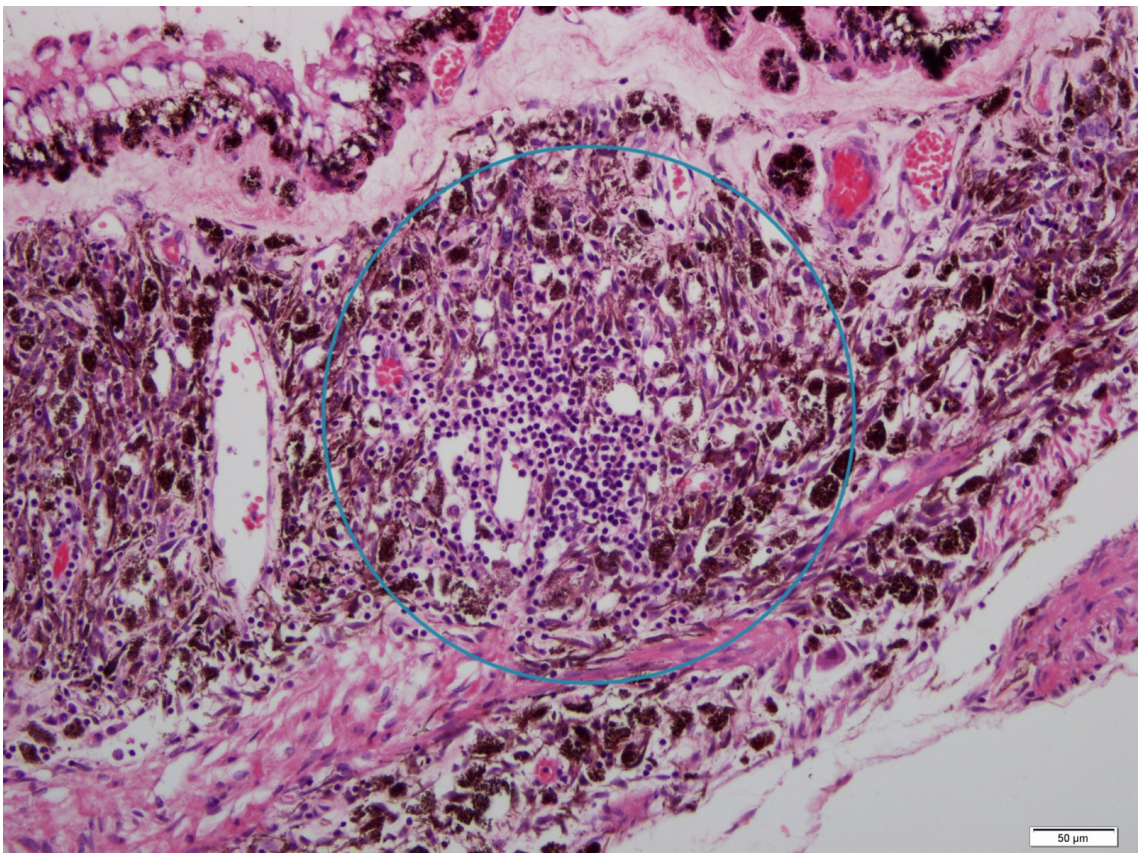


Abbildung 19: Malignes uveales Melanom mit Entzündungszeichen, 20-fache Vergrößerung; der Kreis markiert entzündliches Infiltrat mit eingewanderten Lymphozyten

4.2.7 Makrophagen

Bei der Betrachtung des Makrophagengehalts der Tumoren konnte festgestellt werden, dass, wenn ein Tumor zuvor nicht bestrahlt wurde, eher ein geringer bis mäßiger (jeweils 44,8 %), weniger hingegen ein starker Makrophagengehalt (10,3 %) vorzufinden war. Im Gegensatz dazu findet sich bei den zuvor brachytherapierten Tumoren am häufigsten ein starker Makrophagengehalt (57,1 %) (vgl. Abb. 20). Dieser Unterschied war mit einem p-Wert von 0,002 signifikant.

Die Abb. 21 zeigt ein Uveamelanom mit Makrophagenzone. Links davon finden sich Tumorzellen, rechts ein Nekroseareal. Die Abb. 22 zeigt den gleichen Tumor mit CD68-Anfärbung der Makrophagen.

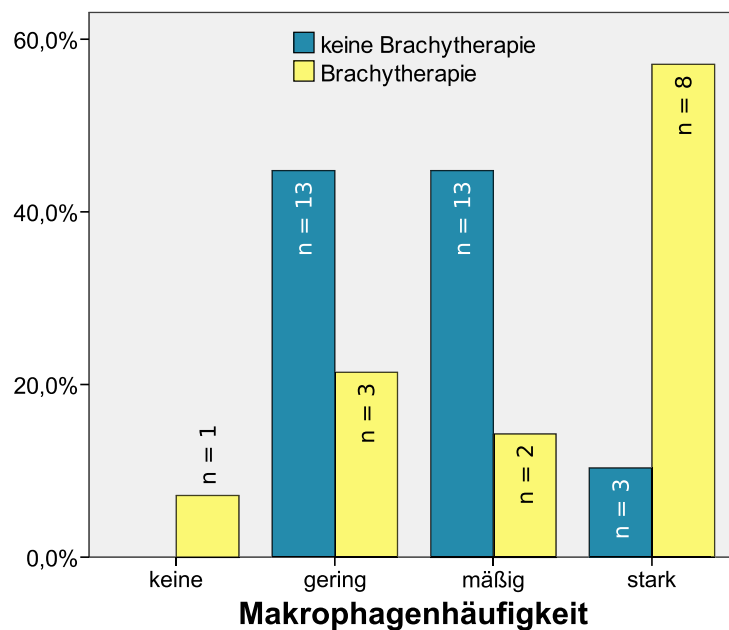


Abbildung 20: Balkendiagramm Makrophagenhäufigkeit

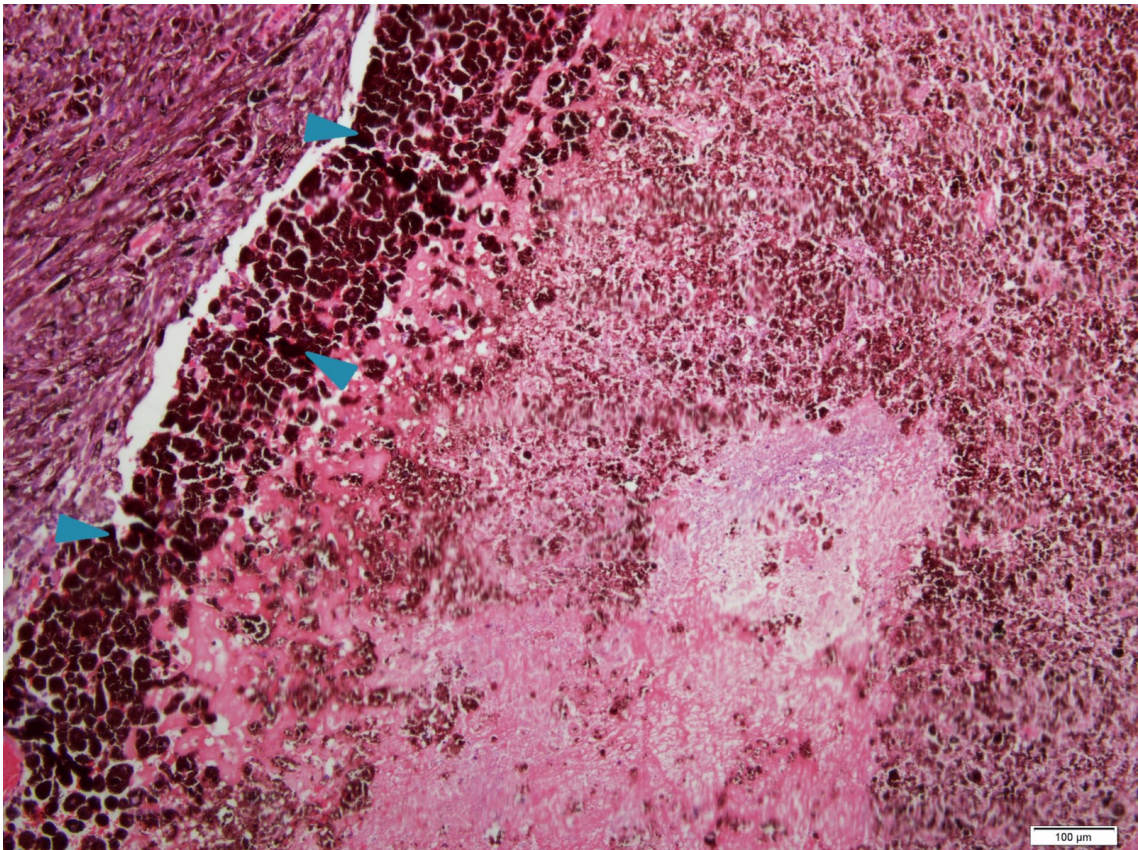


Abbildung 21: Gemischtzelliges malignes Melanom der Uvea mit Makrophagenzone und nekrotischen Anteilen, 10-fache Vergrößerung; die Pfeile markieren beispielhaft dunkel pigmentierte, Melanin speichernde Makrophagen

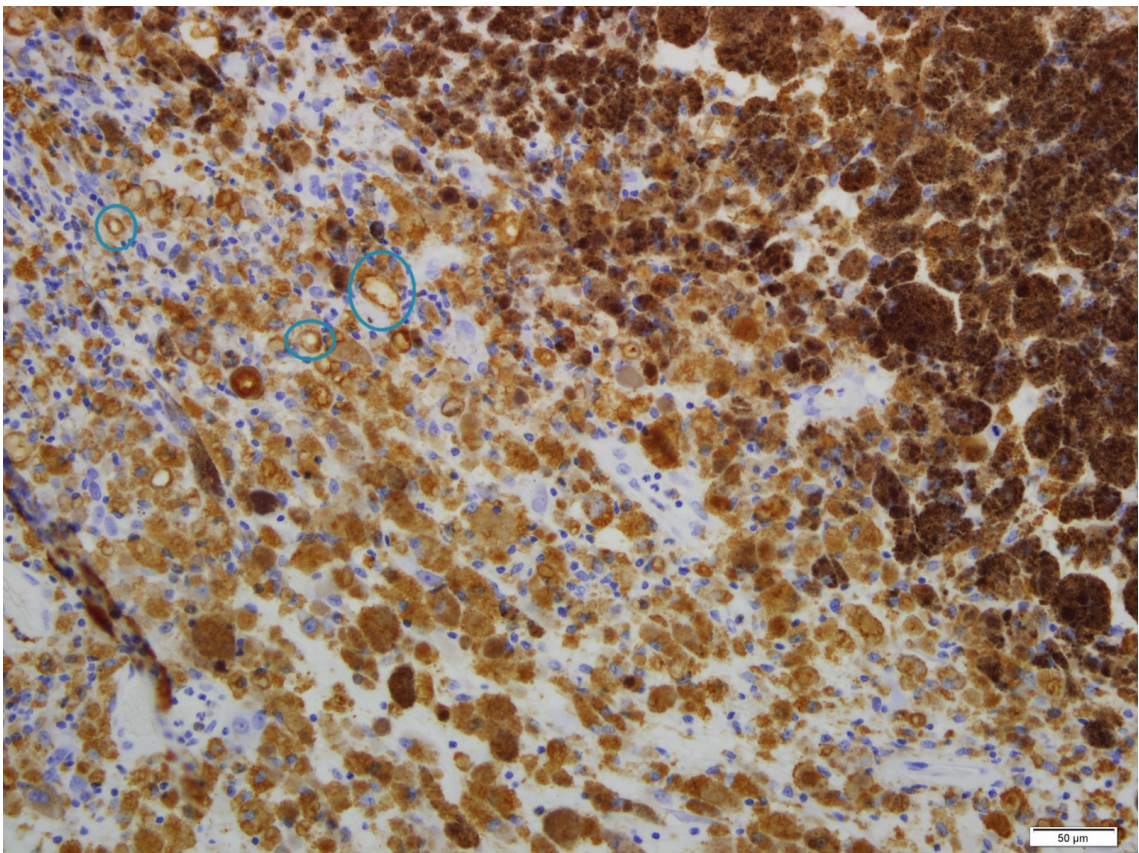


Abbildung 22: CD68-Färbung eines gemischtzelligen malignen Melanoms der Uvea, 20-fache Vergrößerung; die Kreise markieren beispielhaft CD68-angefärbte Makrophagen

4.2.8 Retinadegeneration

Eine Retinadegeneration war in beiden Gruppen bei fast allen untersuchten Augen vorhanden. Lediglich bei einem nicht brachytherapierten Fall war keine degenerierte Retina zu finden (vgl. Abb. 23). Der Unterschied ist somit auch nicht signifikant ($p = 1,000$).

In der Abb. 24 zeigt sich eine Zone mit deutlich weniger Zellen, welche auf eine Degeneration der Retina hindeuten.

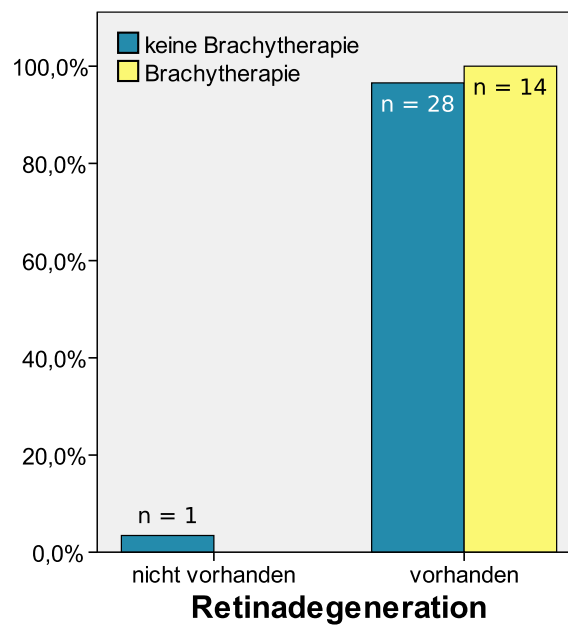


Abbildung 23: Balkendiagramm Retinadegeneration

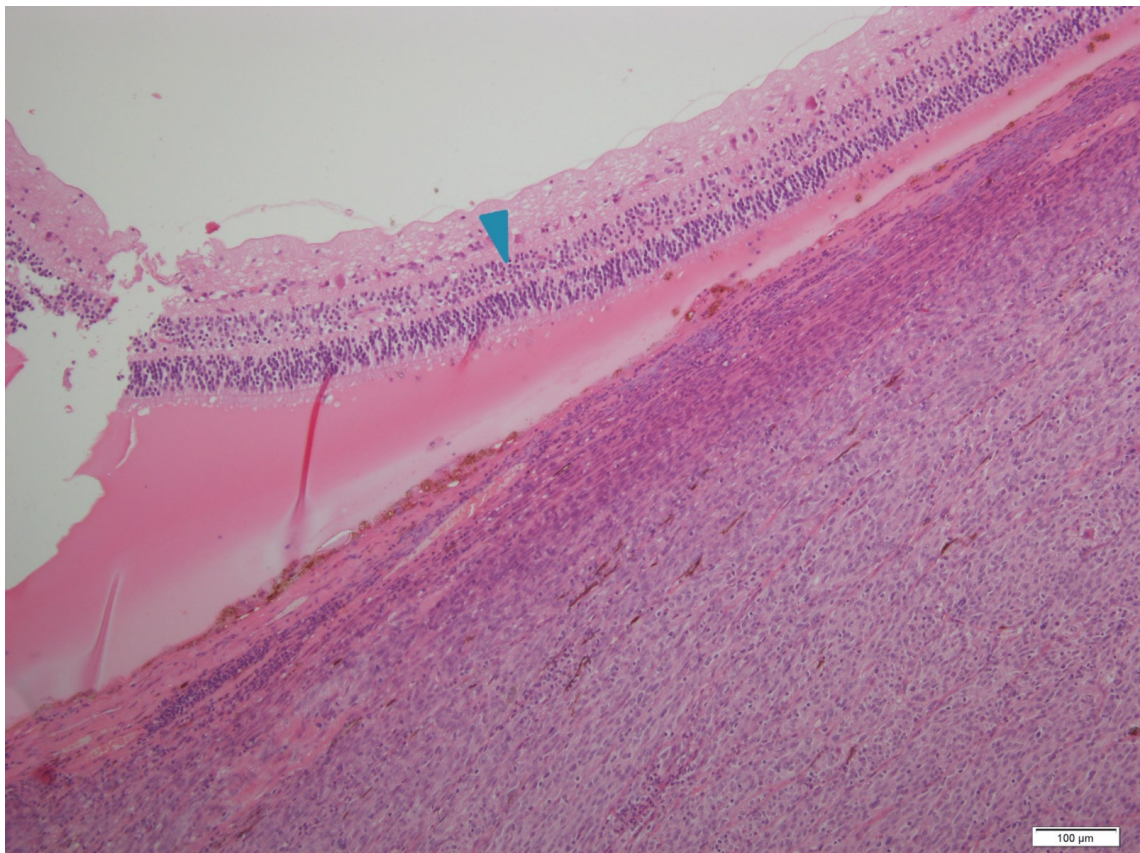


Abbildung 24: Spindelzelliges malignes Uveamelanom mit Zeichen der Retinadegeneration; 10-fache Vergrößerung; der Pfeil markiert die degenerierte Zone

4.2.9 Kernschwellungen

Bei der Mehrzahl der bestrahlten Tumoren fanden sich bei der Betrachtung des gesamten Tumors Kernschwellungen (61,5 %). Diese fanden sich hingegen nur bei 34,5 % der Tumoren der zuvor nicht bestrahlten Kontrollgruppe (vgl. Abb. 25). Mit einem p-Wert von 0,101 scheint dieser Unterschied jedoch nicht signifikant zu sein. Ein Präparat der Fallgruppe war stark regredient, sodass keine Kernschwellungen untersucht werden konnten.

Die Abb. 26 zeigt ein Aderhautmelanom mit blassem, verwaschen imponierendem Kernchromatin im Sinne eines Kernödems.

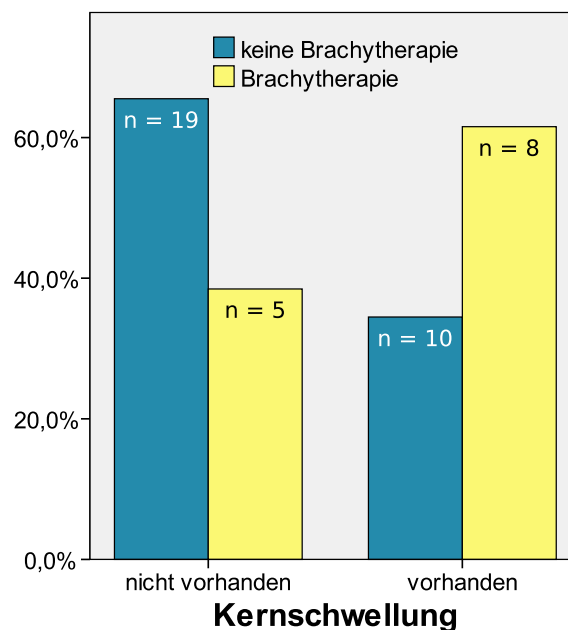


Abbildung 25: Balkendiagramm Kernschwellung

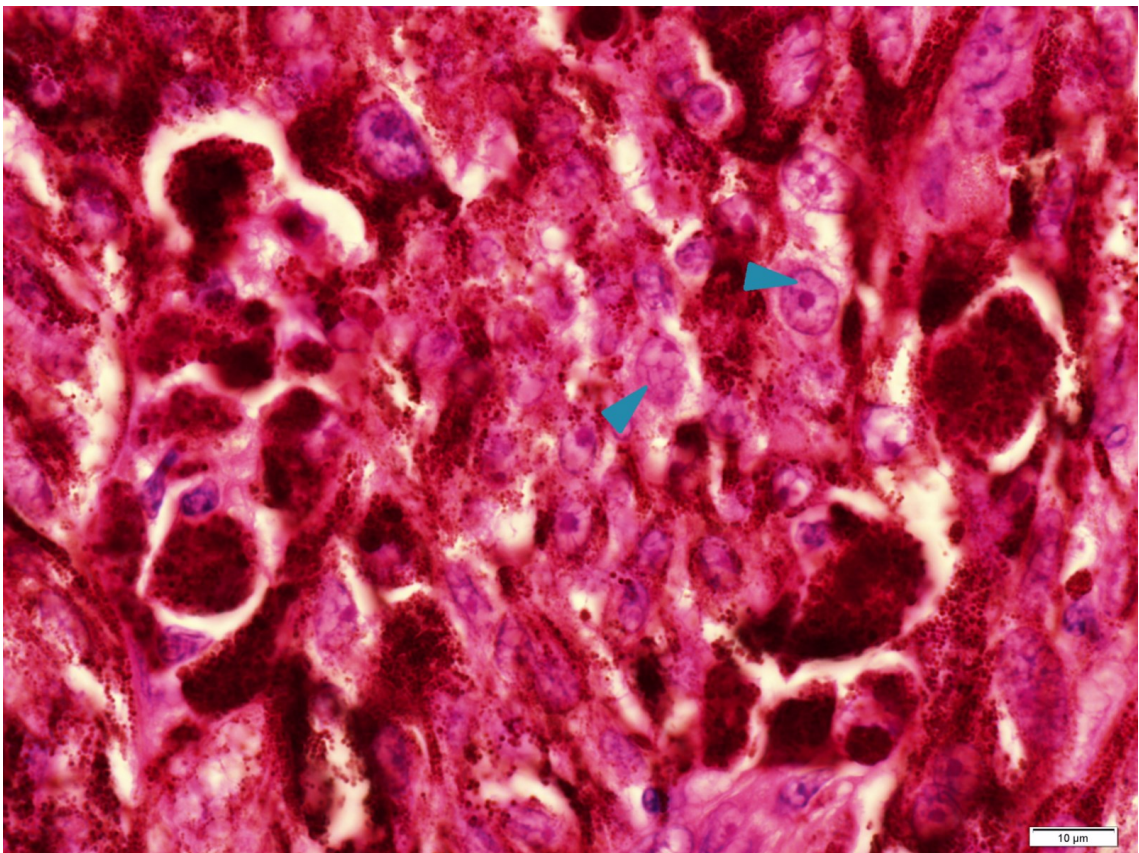


Abbildung 26: Gemischtzelliges malignes Uveamelanom mit Zeichen der Kernschwellung; 100-fache Vergrößerung; die Pfeile deuten auf blasse, vakuolisierte Zellkerne

4.2.10 Kernpyknosen/Karyorrhexis

Pyknosen bzw. Karyorrhexis fanden sich bei 84,6 % der brachytherapierten Tumoren. Jedoch zeigten auch alle nicht brachytherapierten Tumoren solche Merkmale (vgl. Abb. 27). Der Unterschied ist mit einem p-Wert von 0,091 nicht signifikant. Ein Präparat der Fallgruppe war sehr stark regredient, sodass das Merkmal „Kernpyknosen/Karyorrhexis“ nicht bewertet werden konnte.

In der Abb. 28 zeigt sich ein in Apoptose befindlicher Zellkern.

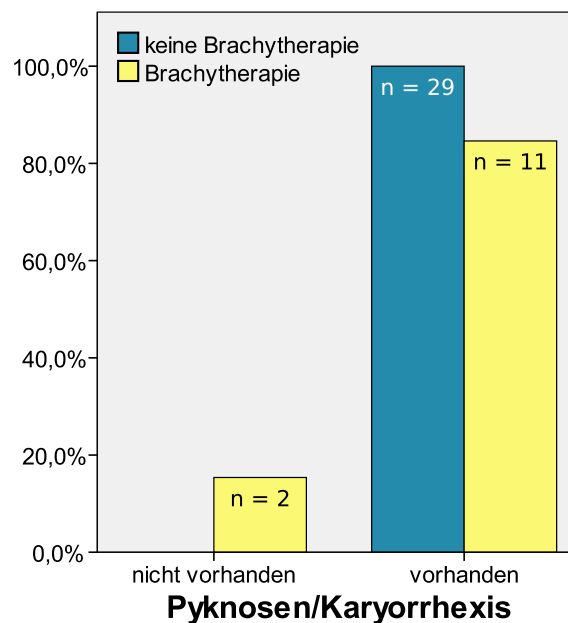


Abbildung 27: Balkendiagramm Kernpyknosen/Karyorrhexis

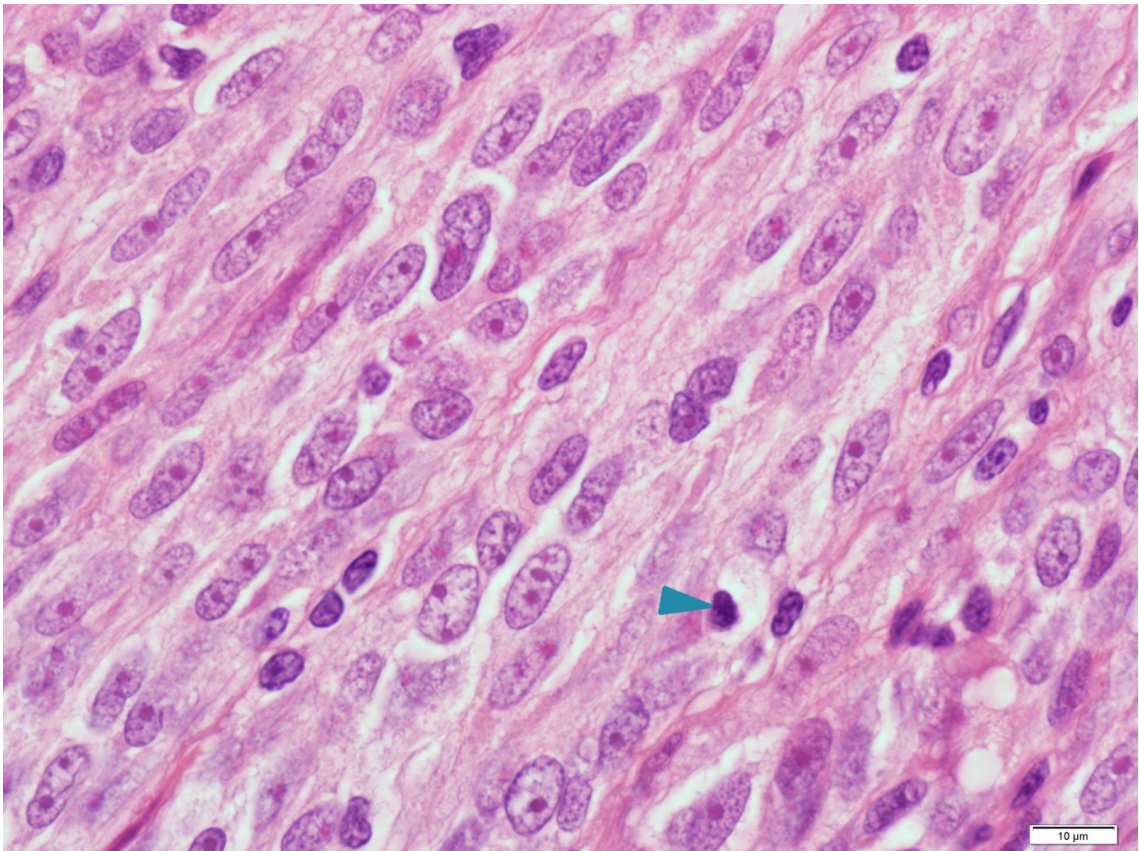


Abbildung 28: Spindelzelliges malignes Melanom der Aderhaut, 100-fache Vergrößerung, die Pfeilspitze deutet auf einen pyknotischen Zellkern

4.2.11 Zytoplasmaödem

Alle Tumoren der Fallgruppe, bei denen das Vorliegen eines Zytoplasmaödems untersucht werden konnte, zeigten ein solches. Dies konnte bei drei Fällen nicht geschehen, da der Tumor entweder komplett regredient war oder eine zu starke Pigmentierung aufwies. In der Kontrollgruppe zeigten 86,2 % der Präparate Zytoplasmaödeme (vgl. Abb. 29). Der p-Wert von 0,560 zeigt für dieses histologische Merkmal keine Signifikanz.

Die Abb. 30 zeigt ein in dieser Studie untersuchtes malignes Melanom der Aderhaut mit Zellen mit Zytoplasmaödem.

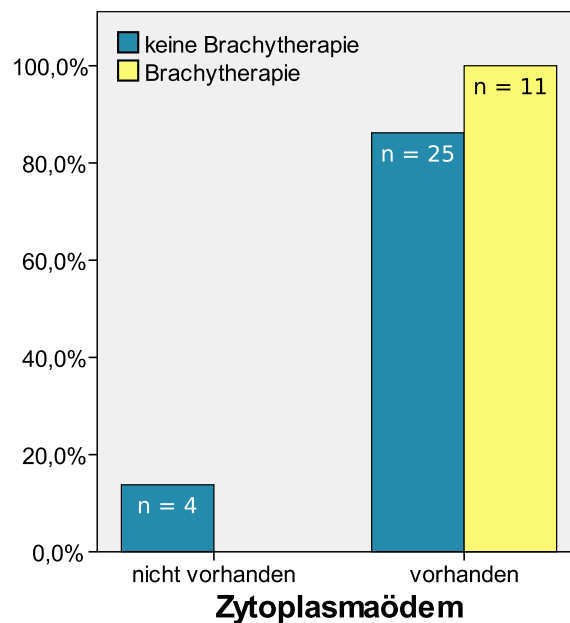


Abbildung 29: Balkendiagramm Zytoplasmaödem

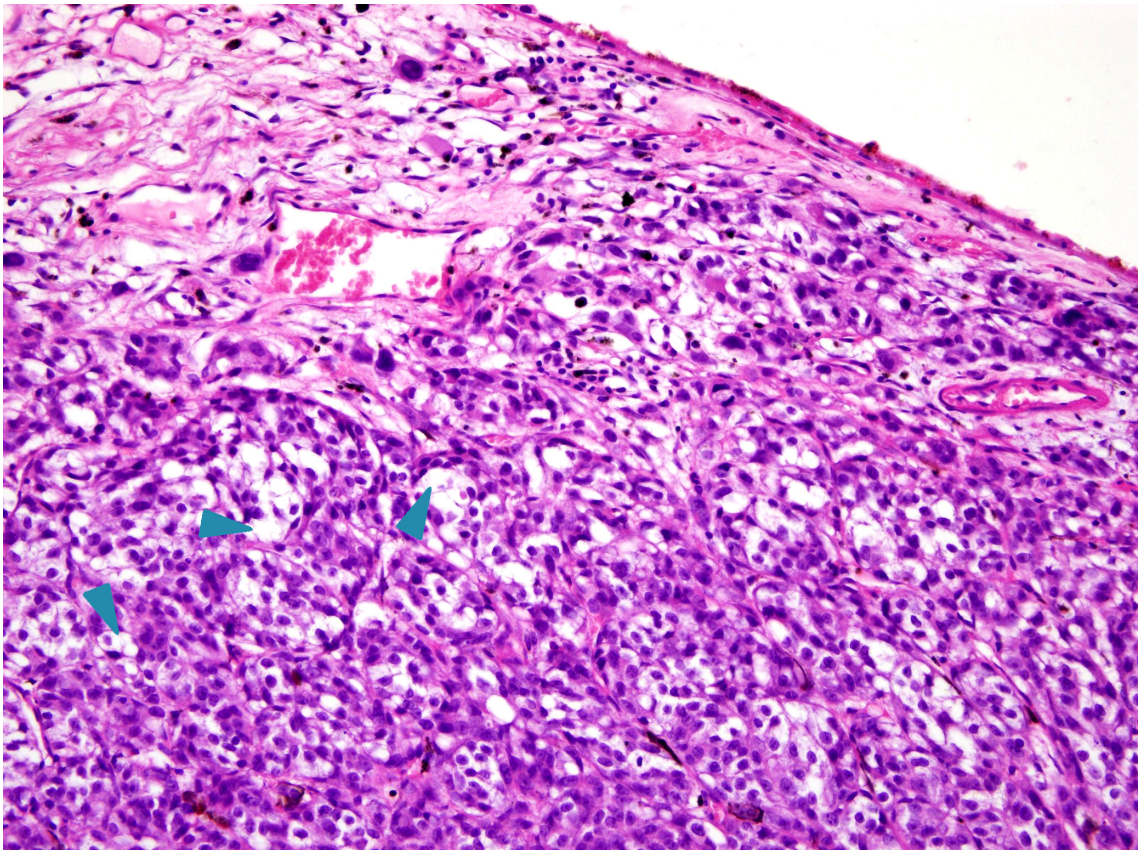


Abbildung 30: Partiell regredientes epitheloidzelliges malignes Melanom der Aderhaut, 20-fache Vergrößerung, die Pfeilspitzen zeigen beispielhaft auf Zellen mit Zytoplasmaödem

4.2.12 Gefäßdilatation

Eine Dilatation der Blutgefäße war in beiden Gruppen jeweils bei ähnlich vielen Tumoren zu entdecken, genauer in der Fallgruppe bei 85,7 % und in der Kontrollgruppe bei 93,1 % (vgl. Abb. 31). Ein signifikanter Unterschied ist somit nicht zu erkennen ($p = 0,585$).

In Abb. 32 sieht man mehrere dilatierte, dünnwandige Blutgefäße im Präparat.

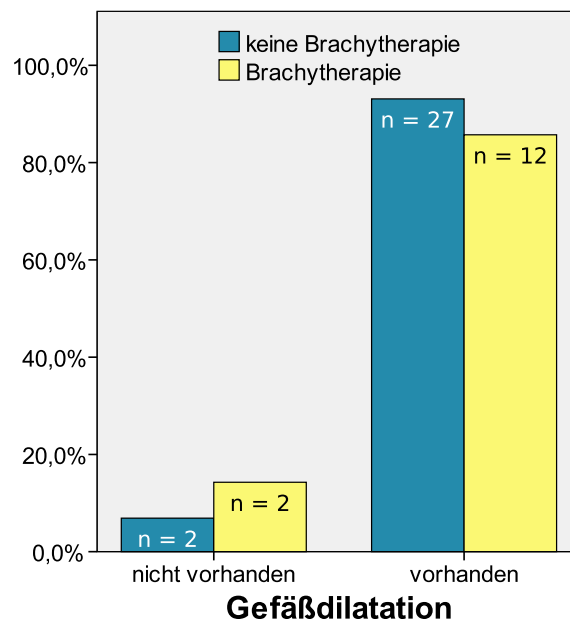


Abbildung 31: Balkendiagramm Gefäßdilatation

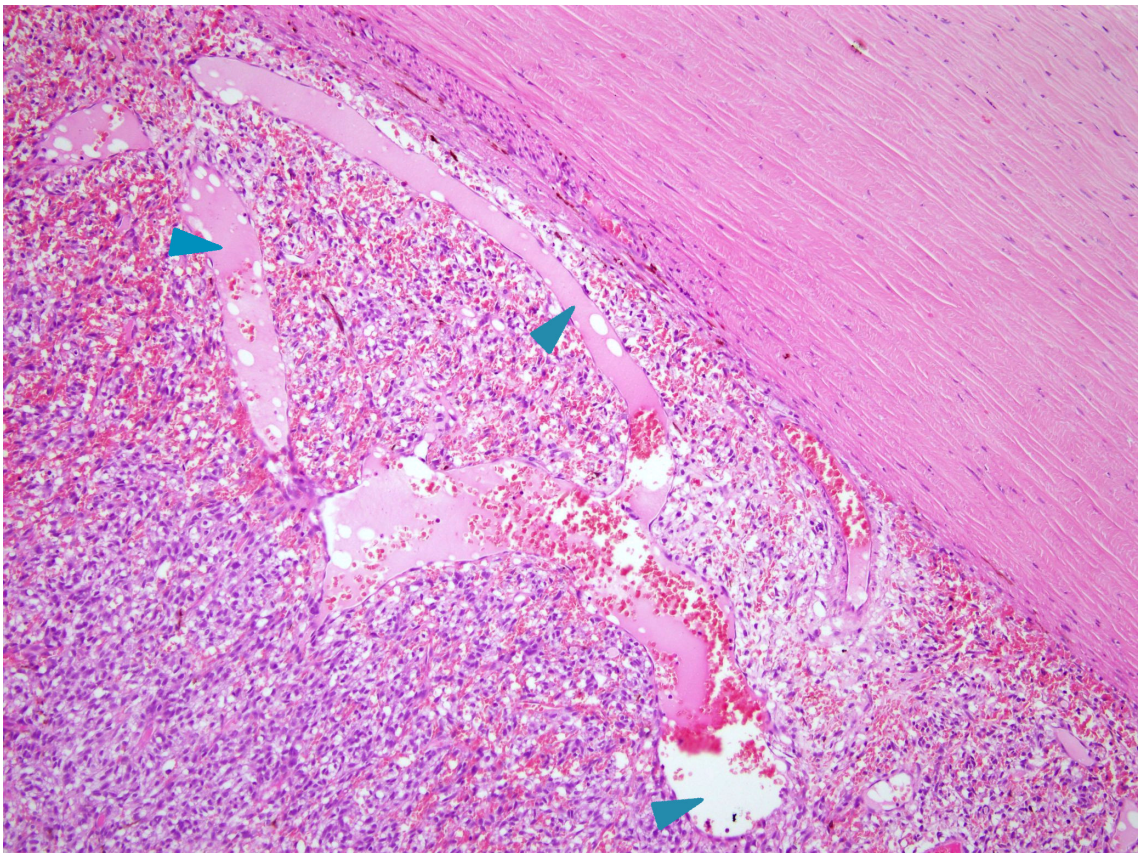


Abbildung 32: Stärker regressiv verändertes spindelzelliges malignes Aderhautmelanom, 10-fache Vergrößerung; die Pfeile deuten auf dilatierte, dünnwandige Gefäße

4.2.13 Gefäßdichte

Lediglich 3,4 % der Präparate der Kontrollgruppe zeigten eine geringe Gefäßdichte von 0 bis 10 pro HPF, wohingegen bei 62,1 % der Präparate eine hohe Gefäßdichte von mehr als 20 Gefäßen pro HPF beobachtet werden konnte. Die Gefäßdichte der Fallgruppe war gleichmäßiger verteilt (vgl. Abb. 33). Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte nicht beobachtet werden ($p = 0,065$), jedoch kann eine gewisse Tendenz zur Signifikanz in Erwägung gezogen werden. Ein Präparat der Fallgruppe war zu stark pigmentiert, als dass sich Aussagen über die Gefäßdichte hätten treffen lassen können.

Abb. 34 zeigt ein malignes Aderhautmelanom mit einer hohen Gefäßdichte von über 20 pro HPF.

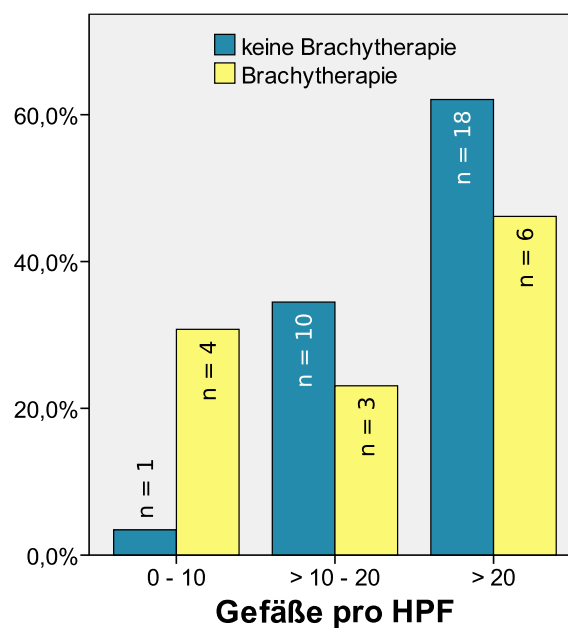


Abbildung 33: Balkendiagramm Gefäßdichte

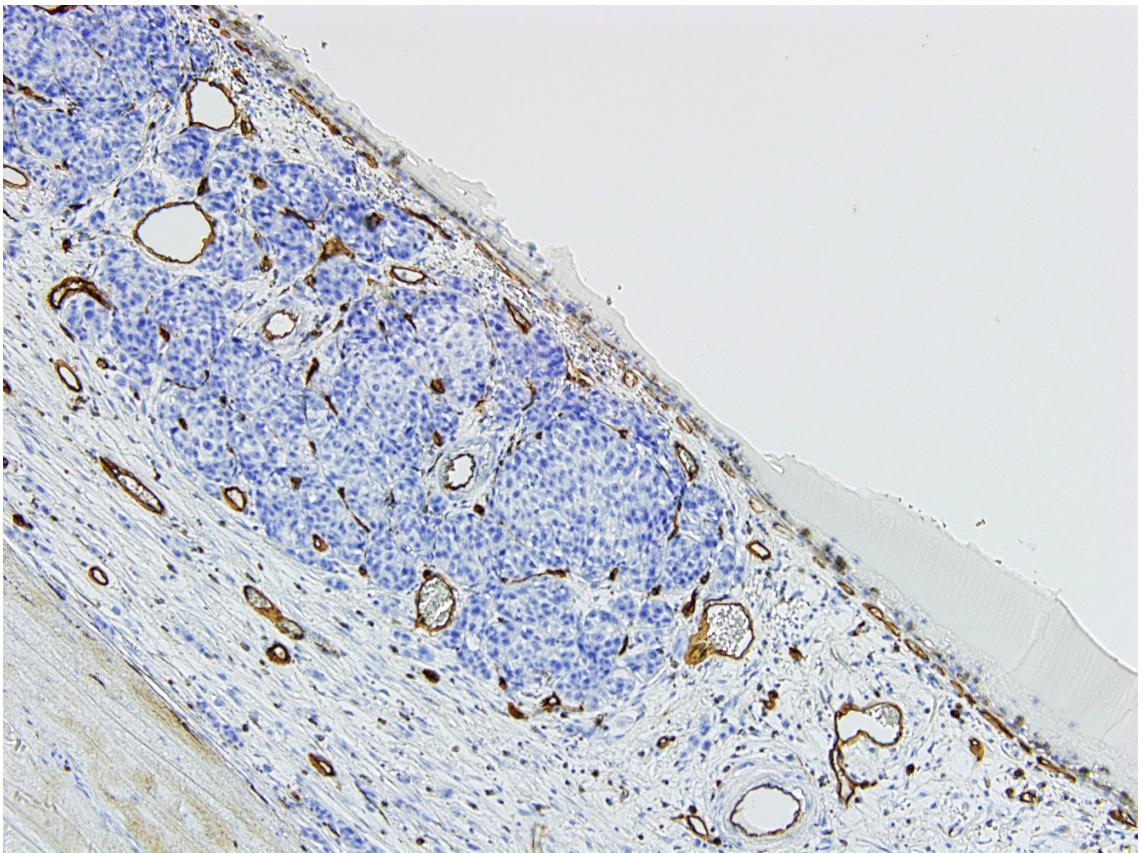


Abbildung 34: CD34-Färbung eines epitheloidzelligen malignen Uveamelanoms mit einer Gefäßdichte von > 20 pro HPF; 10-fache Vergrößerung

4.3 Morphologische Unterschiede innerhalb der Tumoren

Durch den Kruskal-Wallis-Test und den Mann-Whitney-U-Test konnten die Bereiche innerhalb eines Tumors der brachytherapierten Gruppe miteinander verglichen werden. Bei diesen Bereichen wurde ein Unterschied in der Strahlendosis angenommen, welche den jeweiligen Bereich noch erreichte. [52] Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den histologischen Merkmalen zwischen der Tumorbasis, der Tumormitte sowie der Tumorspitze. Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung von jeweils zwei dieser Lokalisationen (vgl. Tab. 7). Für das Merkmal „Retinadegeneration“ wurde eine solche Unterteilung nicht vorgenommen, da nur tumorzellassoziierte Merkmale ausgewertet wurden.

Tabelle 7: Morphologische Unterschiede zwischen den Tumorabschnitten (Anzahl n der untersuchten Präparate, mittlerer Rang der Ausprägung der histopathologischen Merkmale in den verschiedenen Tumorabschnitten Basis, Mitte, Spitze und p-Wert)

	Nekro- sen	Fibro- sierung	Gefäßwand- fibrose	Mito- sen	Prolifera- tionsindex	Ent- zündung	Makro- phagen	Kern- schwellung	Kernpyknosen/ Karyorrhexis	Zytoplas- maödem	Gefäß- dilatation	Gefäß- dichte
n	14	14	14	13	12	14	14	13	13	11	14	13
Basis	22,64	23,14	21,14	20,46	17,46	23,86	21,86	20,00	21,23	17,00	22,50	19,65
Mitte	20,93	19,93	21,14	21,85	21,46	17,96	21,86	20,00	20,04	17,00	21,00	19,19
Spitze	20,93	21,43	22,21	17,69	16,58	22,68	20,79	20,00	18,73	17,00	21,00	21,15
p	0,894	0,763	0,958	0,487	0,477	0,352	0,967	1,000	0,798	1,000	0,801	0,889
Basis	15,07	15,57	14,50	13,04	11,13	16,46	14,50	13,50	13,88	11,50	15,00	13,60
Mitte	13,93	13,43	14,50	13,96	13,88	12,54	14,50	13,50	13,12	11,50	14,00	13,31
p	0,734	0,511	1,000	0,762	0,347	0,210	1,000	1,000	0,801	1,000	0,769	0,920
Mitte	14,50	14,00	14,14	14,88	14,08	12,93	14,86	13,50	13,92	11,50	14,50	12,88
Spitze	14,50	15,00	14,86	12,12	10,92	16,07	14,14	13,50	13,08	11,50	14,50	14,12
p	1,000	0,769	0,839	0,362	0,291	0,329	0,839	1,000	0,801	1,000	1,000	0,687
Basis	15,07	15,07	14,14	14,42	12,83	14,89	14,86	13,50	14,35	11,50	15,00	12,96
Spitze	13,93	13,93	14,86	12,58	12,17	14,11	14,14	13,50	12,65	11,50	14,00	14,04
p	0,734	0,734	0,839	0,545	0,843	0,804	0,839	1,000	0,579	1,000	0,769	0,724

4.4 Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale

Die sekundäre E nukleation nach erfolgter Brachytherapie wurde in der vorliegenden Untersuchung nach frühestens 2 und spätestens 109 Monaten durchgeführt.

Die Tab. 8 zeigt die zeitliche Korrelation des Vorhandenseins von bestimmten histopathologischen Merkmalen bzw. auch der Stärke ihrer Ausprägung. Die Einteilung des zeitlichen Abstands erfolgte in Anlehnung an eine Studie von Gragoudas et al. (1993). [36] Fünf Fälle in unserer Studie wurden innerhalb von 9 Monaten nach Brachytherapie sekundär enukleiert, fünf Fälle innerhalb von 10 und 23 Monaten nach Brachytherapie und vier Fälle nach einem Therapieabstand von mindestens 24 Monaten. In den Spalten des jeweiligen Zeitabschnitts ist dargestellt, wie viele Präparate das jeweilige Merkmal aufwiesen sowie bei welchem Prozentanteil es an allen Präparaten, die insgesamt in diesem Zeitabschnitt enukleiert wurden, nachgewiesen werden konnte. In der mit „Gesamt“ bezeichneten Spalte wird angegeben, wie viele Fälle von allen Präparaten, bei denen das Merkmal überhaupt untersucht werden konnte, dieses aufwiesen.

60 % der E nukleate, bei denen die Bestrahlungstherapie höchstens 9 Monate zurück lag, zeigten Nekrosen. Ähnliches zeigte sich auch in den weiteren Zeitabschnitten. Zwischen 10 und 23 Monaten wiesen 40 % der Präparate Nekrosen auf und in der Gruppe, bei denen die Bestrahlung bereits mehr als 23 Monate zurück lag, wiesen 50 % Nekrosen auf. Diese Unterschiede waren mit einem p -Wert von 1,000 nicht signifikant, das gleiche Ergebnis zeigte sich bei der Signifikanztestung der Nekroseareale.

Gefäßwandfibrosen zeigten sich bei allen Präparaten, welche früh enukleiert wurden. Im mittleren Zeitintervall enukleierte Bulbi zeigten nur in 60 % der Fälle Gefäßwandfibrosen, nach mindestens 24 Monaten waren es 75 % der Fälle ($p = 0,451$). Eine Dilatation der Gefäße war zunächst bei allen Präparaten zu beobachten, ebenso nach

mindestens 24 Monaten, während eine solche zwischenzeitlich nur bei 60 % der Fälle zu verzeichnen war ($p = 0,286$).

Kein Präparat der früh enukleierten Gruppe zeigte Mitosen. Mit fortgeschrittenem Abstand zur Brachytherapie zeigten sich bei einigen Fällen dann auch wieder Mitosen, jedoch war dieser Anstieg der gezählten Mitosen nicht statistisch relevant ($p = 0,145$). Die Hälfte der Präparate zeigte innerhalb der ersten 9 Monate nach Brachytherapie eine Proliferationsfraktion von mehr als 0,1 % der Gesamtfläche, im mittleren Zeitabschnitt zeigte sich diese dann bei allen Präparaten, woraufhin sich der Anteil in der späten Gruppe wieder etwas reduzierte. Teilt man die Gruppen noch nach den Gründen für die sekundäre E nukleation ein, also, ob ein Rezidiv zur sekundären E nukleation führte, zeigt sich, dass im mittleren und späten Zeitabschnitt alle Präparate mit Tumorrezidiv eine Proliferationsfraktion von mehr als 0,1 % der Gesamtfläche aufwiesen.

Die Makrophagenhäufigkeit variierte auch innerhalb der zeitlichen Intervallgruppen, sie war tendenziell in jeder zeitlichen Phase eher stark ($p = 0,827$).

Fibrosierungen zeigten zunächst 80 % der Präparate, nach über 9 Monaten waren es 40 % und nach 2 Jahren stieg der Anteil wieder auf 75 % an ($p = 0,500$).

60 % der Präparate zeigten im frühen und späten Zeitintervall Entzündungen, nach mindestens 24 Monaten zeigten alle Präparate diese. ($p = 0,451$)

Der zeitliche Unterschied des Vorhandenseins von Kernschwellungen in den Präparaten wies eventuell eine Tendenz zur Signifikanz auf, der p-Wert lag bei 0,099. Es zeigte sich, dass kaum E nukleate im mittleren Zeitintervall Kernschwellungen aufwiesen, in der frühen und der späten Phase kamen sie jedoch häufig bis immer vor.

Pyknosen bzw. Karyorrhesis zeigten nach mindestens 24 Monaten alle Präparate, zuvor jeweils 80 % der Fälle ($p = 1,000$).

Die Gefäßdichte war in den früheren Phasen eher gering, nahm dann mit höherem

zeitlichen Abstand zur Brachytherapie jedoch wieder zu, so dass bei drei Viertel der Fälle der späten Gruppe bereits mehr als 20 Gefäße pro HPF zu erkennen waren ($p = 0,120$).

Bei den Merkmalen „Retinadegeneration“ und „Zytoplasmaödem“ wiesen in jedem Zeitabschnitt alle Präparate, bei denen eine Untersuchung möglich war, diese Merkmale auf, ein zeitkorrelierter Unterschied war nicht zu beobachten. Aus diesem Grund erfolgte auch keine Berechnung der Signifikanz.

Auch wenn es Unterschiede zwischen den zeitlich eingeteilten Gruppen gab, zeigte keiner dieser Unterschiede eine statistische Signifikanz.

Tabelle 8: Zeitliche Korrelation der Merkmale

Zeitabstand zwischen Brachytherapie und sekundärer Enukleation [Monate]	≤ 9		10 – 23		≥ 24		Gesamt	<i>p</i>
	n	%	n	%	n	%		
Nekrosen	3	60	2	40	2	50	7/14	1,000
Nekroseareal [% der Gesamtfläche]								1,000
0	2	40	3	60	2	50	7/14	
> 0 – 25	1	20	1	20	2	50	4/14	
> 25 – 50	1	20	0	0	0	0	1/14	
> 50 – 75	0	0	0	0	0	0	0/14	
> 75 – 100	1	20	1	20	0	0	2/14	
Fibrosierung	4	80	2	40	3	75	9/14	0,500
Gefäßwandfibrose	5	100	3	60	3	75	11/14	0,451
Mitosen [pro HPF]								0,145
0	5	100	3	60	1	33	9/13	
1 – 2	0	0	1	20	2	67	3/13	
> 2	0	0	1	20	0	0	1/13	
Proliferationsfraktion [% der Gesamtfläche]								0,709
alle Fälle								0,709
0 – 0,1	2	50	0	0	1	25	3/12	
> 0,1 – 25	2	50	4	100	3	75	9/12	
Tumorrezidivgruppe								0,143
0 – 0,1	1	100	0	0	0	0	1/7	
> 0,1 – 25	0	0	4	100	2	100	6/7	
kein Tumorrezidiv								1,000
0 – 0,1	1	33	0	0	1	50	2/5	
> 0,1 – 25	2	67	0	0	1	50	3/5	
Entzündung	3	60	3	60	4	100	10/14	0,451
Makrophagenhäufigkeit								0,827
keine	1	20	0	0	0	0	1/14	
gering	0	0	2	40	1	25	3/14	
mäßig	1	20	0	0	1	25	2/14	
stark	3	60	3	60	2	50	8/14	
Retinadegeneration	5	100	5	100	4	100	14/14	
Kernschwellung	4	80	1	20	3	100	8/13	0,099
Kernpyknosen/Karyorrhexis	4	80	4	80	3	100	11/13	1,000
Zytoplasmaödem	4	100	4	100	3	100	11/11	
Gefäßdilatation	5	100	3	60	4	100	12/14	0,286
Gefäßdichte [pro HPF]								0,120
0 – 10	2	50	2	40	0	0	4/13	
> 10 – 20	2	50	0	0	1	25	3/13	
> 20	0	0	3	60	3	75	6/13	

5 Diskussion

5.1 Allgemeines

Das maligne Melanom der Uvea ist mit 83 % der häufigste intraokulare Primärtumor des Erwachsenen. Die Inzidenz steigt mit den Lebensjahren an, im Median manifestiert sich dieser Tumor mit 62 Jahren. Die 5-Jahresüberlebensrate liegt bei etwa 82 %. Das maligne Uveamelanom betrifft zumeist primär die Choroidea (90 %), seltener sind Melanome, welche vom Ziliarkörper (7 bis 9 %) oder der Iris (2 %) ausgehen. Vor allem durch die Ergebnisse der „Collaborative Ocular Melanoma Study“ (COMS) veränderte sich das Therapieregime der uvealen Melanome. Bei der COMS-Studie wurden unter anderem Mortalitätsdaten von Patienten, bei denen zwischen 1986 und 2003 eine primäre bzw. sekundäre Enukleation nach ^{125}I -Brachytherapie erfolgte, verglichen. Es zeigten sich ähnliche kumulierte 5-, 10 und 12- Jahres-Überlebensraten von je 81 %, je 65 % und 59 % in der primär und 57 % in der sekundär enukleierten Gruppe. [39, 62] Seitdem stellt die Brachytherapie die primäre Therapieoption von uvealen Melanomen dar, sofern keine Kontraindikationen bestehen. [48] Diese könnten zum Beispiel ein zu großer Tumor oder auch der ausdrückliche Patientenwunsch sein.

Die sekundäre Bulbusenukleation nach Brachytherapie wird meist nur aus drei Gründen durchgeführt. Am häufigsten ist eine Rückkehr des Tumors, danach folgen das Auftreten eines neovaskulären Glaukoms sowie das Nichtansprechen des Tumors auf die Bestrahlung. [26, 82]

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten mögliche Auswirkungen von brachytherapeutischer Behandlung auf die Morphologie von Uveamelanomen beschrieben werden. Zu diesem Zweck wurden histomorphologische und immunhistochemische Merkmale, welche regressive Umbauvorgänge in Tumoren darstellen können, von

43 Aderhautmelanomen miteinander verglichen. Dafür wurden diese Melanome im Sinne einer Fall-Kontroll-Studie in zwei Gruppen eingeteilt. Die Fallgruppe bestand aus 14 sekundär enukleierten Bulbi, welche zuvor brachytherapeutisch behandelt worden waren und die Kontrollgruppe aus 29 zuvor nicht brachytherapeutisch behandelten Bulbusenukleaten. Die grundlegenden Daten, genauer Alter, Geschlecht, Tumorprominenz, Zelltyp und Lokalisation, der Patienten bzw. der Tumoren der Kontrollgruppe unterschieden sich nicht signifikant von denen der Fallgruppe. [43]

Andere Tumorentitäten wie das Rektumkarzinom, gastrale Karzinome sowie Mammarkarzinome werden häufig neoadjuvant bestrahlt, um danach den Tumor operativ zu entfernen. Eine histopathologische Untersuchung von Gewebspräparaten der so entnommenen Tumoren ist somit häufig möglich und wurde bereits vielfach durchgeführt. Typische Befunde, welche nach neoadjuvanter Behandlung an Tumorgewebspräparaten zu finden sind, sind eine Vakuolisierung des Zellplasmas, Kernpyknosen, Karyorrhesis, Degeneration, Fibrosierungen, Nekrosen sowie entzündliches Infiltrat aus Lymphozyten, Granulozyten, Eosinophilen und mehrkernigen Riesenzellen in der Umgebung des Tumors. [104]

Frühere Studien, in denen verschiedene morphologische Kriterien bei zuvor brachytherapierten Uveamelanomen untersucht und quantifiziert wurden, sind die Studien von Heindl et al. (2007) [43] sowie Klaus et al. (1991) [52]. Ebenso wurde im Rahmen der COMS (2008) eine ähnliche Untersuchung durchgeführt. [7] Unsere Untersuchung baut auf diesen Studien auf und beinhaltet noch weitere Kriterien, welche unter anderem aus Regressionsstudien zu anderen Tumorentitäten erschlossen wurden. [113] Zusätzlich wurden immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt.

Bei der Studie von Heindl et al. (2007) wurden, unter anderem, 36 Bulbi, welche

nach dem Auftreten eines Uveamelanoms enukleiert worden waren, miteinander auf histologische Unterschiede verglichen. In der einen Gruppe befanden sich 12, nach hochdosierter ^{106}Ru -Brachytherapie sekundär enukleierte, und in der Kontrollgruppe 24, in der Zeit von 1981 bis 1998 primär enukleierte Augen. Es wurden eine Sklerakontaktdosis von mindestens 600 und höchstens 1000 Gy und eine apikale Dosis von 150 Gy angestrebt. Die Gruppen ähnelten sich in den Eigenschaften Tumoralisation, Tumorgöße, Tumorausbreitung, sowie dem Zelltyp. Die gewonnenen histologischen Schnitte wurden lichtmikroskopisch auf Zeichen von Regression untersucht und die Ergebnisse auf Signifikanz überprüft.

Die Studie von Klaus et al. (1991) umfasste insgesamt 75 Augen mit Uveamelanomen. 25 von ihnen waren nach $^{106}\text{Ru}/^{106}\text{Rh}$ -Brachytherapie sekundär enukleiert, 50 einer primären Enukleation unterzogen worden. Die Tumoren der beiden Gruppen ähnelten sich in Größe und Lokalisation. Jedes Uveamelanom wurde in verschiedene Bereiche eingeteilt: Basis, Mitte und Spitze. Je nach Lokalisation hatte der Tumor somit theoretisch unterschiedliche Strahlendosen erhalten. An der Basis wurde eine den Tumor erreichende Dosis von mehr als 900 Gy angenommen, in der Mitte 500 bis 900 Gy und an der Spitze nur noch eine Dosis von weniger als 500 Gy. Die Tumoren der beiden Therapiegruppen wurden lichtmikroskopisch ebenfalls auf Zeichen von Regression untersucht und miteinander verglichen. Zusätzlich wurde in der bestrahlten Gruppe untersucht, ob Unterschiede bei den histologischen Merkmalen innerhalb eines Tumors, also bezüglich der Lokalisation an der Basis, in der Mitte oder an der Spitze des Tumors, existierten. Immunhistochemische Merkmale wurden in dieser Studie nicht untersucht. [52]

Bei der COMS (2008) wurden 75, zuvor mit ^{125}I bestrahlte Uveamelanome und sekundär enukleierte, Bulbi mit primär enukleierten Augen verglichen. Dieser Ver-

gleich wurde zum einen mit allen 646 nicht zuvor bestrahlten Uveamelanomen der Studie durchgeführt und zum anderen mit einer Gruppe von 75 individuell gepaarten Kontrollen. Diese Kontrollen wurden zur untersuchten Fallgruppe passend ausgewählt und zwar exakt nach dem vorherrschenden Zelltyp und so gut es ging nach der Tumorprominenz, dem Abstand zur fovealen avaskulären Zone und dem Ausgangswert der Sehschärfe.

In der COMS (2008) wurden die histologischen Befunde noch in Schweregrade eingeteilt, wohingegen bei den Studien von Heindl et al. (2007) sowie Klaus et al. (1991) meist nur eruiert wurde, ob ein Merkmal überhaupt vorhanden war oder nicht. Eine Ausnahme bildete dabei allerdings die Untersuchung des Nekrose-, Fibrose- sowie des Hämorrhagieanteils in Relation zur Gesamtfläche.

Die Ergebnisse unserer Arbeit konnten also teilweise gut mit den Ergebnissen der zuvor besprochenen Studien verglichen werden.

5.2 Vergleich unserer Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen mit der Literatur

5.2.1 Nekrosen

Nekrosen konnten in der von uns durchgeführten Studie bei der Hälfte der brachytherapierten sowie 10,3 % der nicht brachytherapierten Bulbusenukleate gefunden werden. Diese Ergebnisse ähnelten den Resultaten von Heindl et al. (2007), welche ebenfalls bei der Hälfte der brachytherapierten Tumoren keine Nekrosen vorfanden. Die Nekroserate bei den nicht brachytherapierten Melanomen lag in der Studie von Heindl et al. (2007) mit 25,0 % jedoch höher als in unserer Studie. Klaus et al. (1991) gaben eine Nekroserate von 24,0 % bei den brachytherapierten bzw. 18,0 % bei den nicht brachytherapierten Uveamelanomen an, was zwar der Tendenz unserer

Ergebnisse entsprach, jedoch mit einem geringeren Unterschied zwischen den Therapiegruppen. Dementsprechend war der Unterschied bei beiden erwähnten Studien nicht signifikant (Heindl et al.: $p = 0,157$; Klaus et al.: $p = 0,553$), bei unserer Studie jedoch schon ($p = 0,007$).

Die Tumoren in den beiden genannten Untersuchungen zeigten nach Brachytherapie im Mittel Nekroseareale von 22,8 % bzw. 16,9 % sowie in der Kontrollgruppe Nekroseareale von 4,4 % bzw. 18,9 %. Da in unserer Studie eine genaue Angabe des Ausmaßes der Nekrosen nicht vorgenommen wurde, sondern lediglich eine Abstufung von 0 bis 100 % in 25 %-Schritten, konnte ein exakter Vergleich nicht vorgenommen werden. Es konnte lediglich ein ungefährender Vergleich angestrebt werden. In unserer Studie zeigten 28,6 % der Tumoren der Fallgruppe im Mittel Nekroseanteile von mehr als 0 % und bis zu 25 %. Von der Kontrollgruppe taten dies hingegen nur 6,9 % ($p = 0,020$). Dies entsprach tendenziell den Resultaten von Heindl et al. (2007).

Um einen Vergleich unserer Studie mit den Ergebnissen der COMS (2008) anzustellen, mussten unsere Ergebnisse erneut etwas anders zusammengefasst werden. Dort zeigten 24 % der untersuchten Präparate der brachytherapierten Gruppe keine Nekrosebildung, 62 % zeigten einen Nekroseggrad von bis zu 50 % und weitere 15 % einen Nekroseggrad von mehr als 50 %. Im Gegensatz dazu waren 67 % bzw. 68 % der nicht brachytherapierten Untersuchungspräparate überhaupt nicht nekrotisch, jeweils 32 % bis zu 50 % nekrotisch und nur 1 % der gesamten Fälle der Kontrollgruppe zu mehr als 50 % nekrotisch. Diese Unterschiede zwischen den Therapiegruppen waren mit einem p-Wert von jeweils höchstens 0,02 bzw. 0,05 signifikant. In unserer Studie waren hingegen sogar 50,0 % Präparate der Fallgruppe nicht nekrotisch, 35,7 % bis zu 50 % nekrotisch und 14,3 % zu mehr als 50 % nekrotisch. Dabei zeigten allerdings 86,2 % der Kontrollgruppe keine Nekrosen und nur 6,9 % bzw. 3,4 % Nekroseareale von bis zu bzw. mehr als 50 %. Hier zeigte sich mit einem p-Wert von 0,020 ein signifikanter Unterschied zwischen den Therapiegruppen.

5.2.2 Fibrosierung

Eine Narbenbildung erfolgte in der Untersuchung von Heindl et al. (2007) bei 50,0 % der bestrahlten sowie bei keinem der nicht bestrahlten Tumoren ($p = 0,001$). Bei Klaus et al. (1991) erfolgte sie bei 24,0 % der bestrahlten Fälle. Bei der COMS (2008) waren bei 91 % der brachytherapierten und bei 54 % der nicht brachytherapierten Paarungen Fibrosierungen zu entdecken. Der p-Wert lag dabei bei höchstens 0,05. In unserer Studie fanden sich Fibrosierungen bei 64,3 % der Tumoren in der Brachytherapiegruppe und bei 37,9 % der anderen Gruppe ($p = 0,104$).

5.2.3 Gefäßwandfibrose

Eine Verdickung der Gefäßwände wurde bei Heindl et al. (2007) bei 66,7 % der Tumoren in der brachytherapierten und bei 8,3 % der Tumoren in der Kontrollgruppe festgestellt ($p = 0,001$). Bei Klaus et al. (1991) lagen die Werte niedriger, genauer gesagt bei 28,0 % bzw. 8,0 %. Ein p-Wert wurde nicht angegeben. Die COMS (2008) gab Werte von 43 % in der brachytherapierten Fallgruppe und 6 % in der nicht brachytherapierten, individuell gepaarten Kontrollgruppe an, mit einem p-Wert von höchstens 0,05. In der hier vorliegenden Studie kam eine Gefäßwandfibrose insgesamt häufiger vor und zwar bei 78,6 % der Tumoren in der Fallgruppe und bei 37,9 % der Tumoren in der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war, wie in den zuvor genannten Studien, signifikant ($p = 0,012$).

5.2.4 Mitosen

Klaus et al. (1991) hatten in ihrer Untersuchung mit einem Messraster Mitosefiguren ausgezählt. Dabei fanden sich bei 20 % der bestrahlten Tumoren 0,16 Mitosen pro Zähleinheit und bei 62 % der nicht bestrahlten Tumoren 0,43 Mitosen. In unserer Untersuchung fanden sich bei 69,2 % der Tumoren der Fallgruppe keine Mitosen,

bei 23,1 % zeigten sich 1 bis 2 Mitosen pro „high power field“ ($\text{HPF} = 0,2 \text{ mm}^2$) und bei 7,7 % mehr als 2 Mitosen pro HPF ($p = 0,336$).

5.2.5 Proliferationsindex

Das Ki67-Antigen ist ein Marker für proliferierende eukaryote Zellen. Es wird zellzyklusabhängig in allen Zellen sezerniert, welche sich in den aktiven Phasen der Zellteilung befinden. Ruhende Zellen, also Zellen welche sich in der G0-Phase des Zellzyklus befinden, sowie Zellen in der frühen G1-Phase produzieren kein Ki67-Antigen. [11]

In der späten G1-Phase beginnt die Zelle, Ki67 zu produzieren, welches sich zuerst perinukleär anreichert und später über den gesamten Zellkern sowie das Zytoplasma ausbreitet. Während der frühen Mitose ist Ki67 vorwiegend perichromosomal und ausschließlich im Zellkern vorzufinden, breitet sich dann während der Metaphase ins Zellplasma aus und verschwindet dann in umgekehrter Reihenfolge während der Ana- und Telophase wieder. [11]

Durch immunhistochemische Anfärbung des Ki67-Antigens lässt sich die Stärke der Proliferation der betrachteten Zelle quantifizieren. [11, 35, 82] Der Proliferationsindex zeigt also die Stärke des Zellwachstums. Es wird angenommen, dass sie nach einer brachytherapeutischen Behandlung abnimmt. [82]

Zur Untersuchung der beiden Therapiegruppen innerhalb unserer Studie hatten wir die Ergebnisse der Proliferationsindizes in eine geringe Proliferationsfraktion von bis zu 0,1 % und eine größere von mehr als 0,1 % unterteilt. Ein Vergleich dieser Untergruppen zeigte ein signifikantes Ergebnis ($p = 0,021$).

In einer Studie von Pe'er et al. (2001) [72] wurden 57, nach ^{106}Ru -Brachytherapie sekundär enukleierte, Augen mit 46 zuvor nicht bestrahlten Augen hinsichtlich

der Proliferationsaktivität der Präparate verglichen. Dafür wurden die histologischen Schnitte unter anderem mit dem immunhistochemischen Marker MIB-1 für den Nachweis von Ki67 angefärbt, die angefärbten Zellen ausgezählt und so die Proliferationsfraktion bestimmt. Die Präparate wurden zunächst in drei Gruppen eingeteilt. Eine Kontrollgruppe mit primär enukleierten Bulbi ($n = 46$), eine Fallgruppe aus sekundären E nukleaten aufgrund eines Tumorrezidivs ($n = 44$) und eine Fallgruppe, welche nach Brachytherapie aufgrund von Komplikationen wie einem Sekundärglaukom oder ähnlichem enukleiert wurden ($n = 13$). Der Median der Proliferationsfraktion der Gruppe der nicht brachytherapierten Tumoren war größer als die der zuvor brachytherapierten Fallgruppen, wobei die Proliferationsfraktion der Fallgruppe mit Tumorrezidiv nicht sehr viel niedriger, die der Fallgruppe ohne Tumorrezidiv jedoch deutlich niedriger war. Bei der von uns durchgeführten Studie wurde die Proliferationsfraktion zwar nach einem anderen Prinzip berechnet, weshalb die absoluten Zahlen nicht miteinander verglichen werden konnten. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass der Median der Proliferationsfraktion der Kontrollgruppe in unserer Studie, im Gegensatz zur Studie von Pe'er et al. (2001), 1,3 Prozentpunkte geringer war als der der Proliferationsfraktion der Fallgruppe mit Tumorrezidiv. Zudem wies die Fallgruppe ohne Tumorrezidiv in unserer Studie, äquivalent zu den Ergebnissen von Pe'er et al. (2001), einen um 0,2 Prozentpunkte geringeren Median der Proliferationsfraktion auf (vgl. Tab. 9).

Die Studie von Pe'er et al. (2001) sowie unsere Ergebnisse verdeutlichen die Wirksamkeit der Bestrahlung auf die Tumorzellen. Außerdem zeigen sie die Notwendigkeit einer sekundären Therapie, wie zum Beispiel einer sekundären Bulbusenukleation, nach erneutem Tumorstadium, da Rezidivtumoren nach Brachytherapie eine ähnlich hohe Anzahl an proliferierenden Tumorzellen aufweisen können wie Tumoren, die bislang noch nicht durch Brachytherapie behandelt wurden. Diese deutliche

Erhöhung der Proliferationsfraktion bei den Tumorrezidiven verdeutlicht das Therapieversagen. Außerdem besitzen selbst Tumoren, welche makroskopisch kein erneutes Tumorwachstum aufweisen, proliferierende Zellen und sollten deshalb im Verlauf auf ein erneutes Wachstum überwacht werden.[72]

Tabelle 9: Proliferationsfraktion nach Pe’er et al. (2001) im Vergleich zu unserer Studie

		Median	Min	Max
Pe’er et al. ¹	Fallgruppe mit Tumorrezidiv ($n = 44$)	5,4	0	48,8
	Fallgruppe ohne Tumorrezidiv ($n = 13$)	0,4	0	119,8
	Kontrollgruppe ($n = 46$)	5,8	0	35,7
unsere Studie ²	Fallgruppe mit Tumorrezidiv ($n = 7$)	2,5	0,09	19,8
	Fallgruppe ohne Tumorrezidiv ($n = 5$)	0,96	0,0	3,4
	Kontrollgruppe ($n = 29$)	1,2	0,1	25,5
¹ [PCC/HPF], PCC = positive Zellzahl; ² [% der Gesamtfläche]				

5.2.6 Entzündung

Entzündliche Prozesse des Tumorgewebes können nach brachytherapeutischer Behandlung von Uveamelanomen gehäuft vorkommen. [7, 38] In der COMS (2008) traten bei 68 % der brachytherapierten Uveamelanome moderate bis starke Entzündungsvorgänge auf im Vergleich zu 29 % bzw. 27 % in den nicht brachytherapierten Gruppen, genauer der Gruppe mit allen Uveamelanomen bzw. der gepaarten Kontrollgruppe. Diese Unterschiede zwischen den Therapiegruppen sind mit p-Werten von höchstens 0,02 bzw. 0,05 signifikant. In unserer Studie fanden sich bei 71,4 % der brachytherapierten uvealen Melanome Entzündungszeichen. In der Kontrollgruppe

unserer Studie fanden sie sich hingegen bei 24,1 %. Der Unterschied zwischen den Therapiegruppen ähnelte in unserer Studie also den Resultaten der COMS (2008). Es zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied ($p = 0,003$).

5.2.7 Makrophagen

Die Makrophagenhäufigkeit wird durch immunhistochemische Anfärbung des Präparats mit dem Marker gegen CD68 beurteilt.

CD68 ist ein Typ-1 Membranprotein und gehört sowohl zur Familie der Lysosomen-assoziierten Membranproteine als auch zur Familie der Scavenger-Rezeptoren. Es befindet sich unter anderem auf Monozyten und Gewebsmakrophagen, weswegen es als bedeutsamer immunhistochemischer Marker für diese Zellen gilt. Es markiert sowohl M1- als auch M2-Makrophagen sowie Tumor-assoziierte Makrophagen. [13, 45, 77] Das vermehrte Auftreten von M2-Makrophagen in einem Tumor geht mit einer schlechteren Prognose einher. Es wird vermutet, dass durch die proangiogene Wirkung, welche M2-Makrophagen zugesprochen wird, eine hämatogene Streuung des Primärtumors begünstigt wird und dies wiederum zu einer schlechteren Prognose führt. Als zusätzlicher Grund für die Verringerung der Überlebenszeit der Patienten wird die Unterdrückung von CD8-Zellen durch M2-Makrophagen angenommen, welche ansonsten das Tumorwachstum bremsen würden. [12]

Makrophagen zeigten sich in der COMS (2008) bei 73 % der brachytherapierten Präparate mäßig bis stark häufig. In den nicht brachytherapierten Gruppen waren es jeweils 60 %. Dieser Wert war signifikant, mit einem p-Wert von höchstens 0,02 bzw. 0,05. Ähnliche Werte zeigten sich in unserer Studie. Dort hatten 71,4 % der brachytherapierten Präparate einen mäßigen bis starken Makrophagengehalt. In der nicht brachytherapierten Gruppe unserer Studie waren es 55,1 %. Dieser Unterschied war mit einem p-Wert von 0,002 signifikant.

Diese Ergebnisse würden zwar nicht die Annahme unterstützen, dass durch die brachytherapeutische Therapie des Uveamelanoms die Prognose des Patienten verbessert werden sollte, da man dann eher ein Absinken der Makrophagenzahlen nach Brachytherapie vermutet hätte. Die Makrophagen sind jedoch vermutlich nach der Brachytherapie aufgrund von nekrotischen und apoptotischen Vorgängen in den Tumor eingewandert, weshalb sich ihre Anzahl erhöht hat. [113]

5.2.8 Retinadegeneration

Heindl et al. (2007) teilten die Netzhaut zu ihrer Untersuchung in einen tumornahen und einen tumorfernen Bereich ein. 100,0 % der brachytherapierten Tumoren und 87,5 % der Kontrollgruppe zeigten dort eine Degeneration der tumornahen Netzhaut ($p = 0,536$). Im tumorfernen Bereich taten dies 45,5 % bzw. 62,5 % ($p = 0,467$). Bei unserer Untersuchung wurde die Degeneration der gesamten Retina betrachtet. Eine solche zeigte sich, ähnlich wie bei der Betrachtung der tumornahen Netzhaut bei Heindl et al. (2007), bei 100,0 % der Tumoren der Fallgruppe sowie bei 96,6 % der Kontrollgruppe, jedoch mit einem p-Wert von 1,000 ebenfalls nicht signifikant.

In unserer Studie wurden noch weitere histologische Merkmale untersucht, welche Zeichen einer Regression sein könnten, jedoch in den zuvor erwähnten Studien nicht aufgenommen worden waren. Diese Merkmale waren zum Beispiel bei Regressionsstudien anderer Tumorentitäten untersucht worden. [79, 95, 104]

5.2.9 Kernschwellungen

Kernschwellungen, welche auf eine Einwirkung von brachytherapeutischer Strahlung auf eine Zelle hinweisen könnten [95], waren häufiger in der Gruppe der brachytherapierten Uveamelanome zu entdecken ($p = 0,101$). Dieses Merkmal wurde in den Studien von Heindl et al. (2007), Klaus et al. (1991) sowie in der COMS (2008) nicht

untersucht.

5.2.10 Kernpyknosen/Karyorrhexis

Nach einer Brachytherapie eines Tumors kann es ebenfalls zu Veränderungen des Zellkernes der Tumorzellen, genauer zu einer Kernpyknose und Karyorrhexis kommen. [79, 95] Dies trat in unserer Studie bei den brachytherapeutisch behandelten Uveamelanomen jedoch nicht signifikant häufiger auf als bei der Kontrollgruppe ($p = 0,091$).

5.2.11 Zytoplasmaödem

Vakuolisiertes Zytoplasma entwickelt sich dosisabhängig nach applizierter Strahlen- oder Chemotherapie. [95] In unserer Studie entwickelte sich bei allen Gewebepräparaten der Fallgruppe ein Zytoplasmaödem, jedoch auch bei 86,2 % der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war deshalb nicht signifikant ($p = 0,560$). Ein Zytoplasmaödem schien also keinen wichtigen morphologischen Unterscheidungspunkt darzustellen. Ein Unterschied der Häufigkeit von vakuolisiertem Zytoplasma wurde bei Studien erkannt, welche morphologische Veränderungen generell nach neoadjuvanter Therapie, also sowohl Radiotherapie als auch Chemotherapie untersuchte. [113] In den Studien von Heindl et al. (2007), Klaus et al. (1991) und in der COMS (2008) wurde dieses Merkmal nicht untersucht.

5.2.12 Gefäßdilatation

Gefäßdilatationen werden als morphologisches Merkmal nach Radiochemotherapien beobachtet. [113] In unserer Studie fanden sich jedoch sowohl bei stattgehabter Brachytherapie als auch bei nicht brachytherapeutisch behandelten Uveamelanomen sehr häufig Dilatationen der Gefäße ($p = 0,585$).

5.2.13 Gefäßdichte

Die Untersuchung der Gefäßdichte erfolgte durch immunhistochemische Anfärbung der Präparate mit dem Marker gegen CD34.

CD34 ist ein stark glykosyliertes Typ-I-Membranprotein [55] mit einer molekularen Masse von 110 kDa [30, 96, 103], welches bei der immunhistochemischen Markierung von Stamm- und Endothelzellen hilfreich sein kann. Jedoch ist eine solche Markierung von Endothelzellen nur bei kleinen Blutgefäßen und weniger bei größeren Venen und Arterien möglich. [96] Als Zell-Zell-Adhäsionsmolekül wird es in verschiedenen Zellen exprimiert, unter anderem in hämatopoetischen Stammzellen und Endothelzellen. [15, 27, 30]

Es wird angenommen, dass das CD34-Protein eine Rolle bei zellulären Interaktionen, Migrationsprozessen, Zelladhäsionen und Zellproliferationen spielt. [30, 83, 96, 106] Zudem wird es auf verschiedenen anderen Zellen exprimiert, bei denen es diverse Funktionen erfüllt, auf welche hier nicht im Speziellen eingegangen wird. Gemein ist den meisten dieser CD34-positiven Zellen jedoch, dass sie einen proliferativen, aufbauenden Charakter haben. [30, 83, 96, 106]

Eine Untersuchung auf CD34 fällt bei den meisten vaskulären Neoplasien positiv aus, sowohl bei benignen als auch malignen Prozessen. Jedoch findet sich bei malignen Neoplasien grundsätzlich eine stärkere Anfärbung, was eine Beteiligung des CD34-Antigens an proliferativen und Zellmigrationsprozessen deutlich macht. [106]

Eine wichtige Aufgabe scheint das CD34-Antigen bei tumorösen Geschehen in seiner Rolle bei der Angiogenese zu haben. So sind CD34-positive Zellen an den Filopodien von Tip-Zellen zu finden, welche bei der Angiogenese an der anwachsenden Seite zu finden sind. [96, 97]

Etwa 62 % der nicht bestrahlten Tumoren in unserer Studie zeigten eine hohe Gefäßdichte von mehr als 20 Gefäßen pro HPF, wohingegen dies bei den bestrahlten Uveamelanomen in etwa 46,2 % der Fälle so war ($p = 0,065$).

5.3 Morphologische Unterschiede innerhalb der Tumoren

Die Sklerakontaktdosis bei der Brachytherapie des Uveamelanoms beträgt häufig bis zu 1500 Gy, wohingegen die apikal erreichte Dosis nur noch 70 bis 100 Gy beträgt. Durch diesen steilen Dosisabfall könnte man erwarten, dass die Strahlung, welche mit dem Gewebe interagiert, unterschiedliche Merkmalsausprägungen hervorruft. In unserer Studie war ein solcher Unterschied zwischen den Lokalisationen innerhalb eines Tumors nicht zu erkennen. In der Studie von Klaus et al. (1991) [52] ließ sich ein solcher signifikanter Unterschied bei dem Ausmaß der Vernarbung des Gewebes erkennen. Die Verteilung von Mitosen und Nekrosen war innerhalb der Tumoren nicht signifikant unterschiedlich.

Dass es in unserer Studie keine signifikanten Unterschiede in der Merkmalsausprägung zwischen den Tumorabschnitten gibt, könnte zeigen, dass die erreichte apikale Dosis ausreichend ist und ein Rezidiv eines Tumors womöglich nicht davon abhängt, dass die apikale Dosis zu gering war, sondern dass der Tumor insgesamt nicht ausreichend auf die ionisierende Strahlung reagierte.

5.4 Zeitliche Korrelation der histopathologischen Merkmale

In der Studie von Gragoudas et al. (1993) [36] wurde untersucht, in welchem Zeitrahmen nach einer Bestrahlung von Uveamelanomen, in diesem Fall nach Protonenbestrahlung, verschiedene morphologische Veränderungen auftraten. Es wurden dafür 92 Bulbusenukleate untersucht. Diese wurden zwischen einem Monat und 7,6 Jahren (MW 26 Monate) nach Bestrahlung sekundär enukleiert. Die Gründe für die sekundäre Enukleation waren Neovaskularisationsglaukome (47 %), erneutes Tumorwachstum (25 %) und sonstige Gründe (28 %). Die Enukleate wurden in drei verschiedene Gruppen, je nach zeitlichem Abstand zur Bestrahlung, eingeteilt. Sie stellten fest, dass das Vorkommen von Entzündungsvorgängen mit der Zeit nach der

Protonenbestrahlung abnahm, wohingegen das Vorhandensein von Fibrosierungen zunahm. 57 % der Fälle, welche innerhalb von 12 Monaten nach Bestrahlung entnommen worden waren, zeigten moderate bis starke Entzündungen, wohingegen es bei den Fällen, welche frühestens 30 Monate nach der Therapie entnommen wurden, nur 39 % waren. In unserer Studie war die Tendenz anders herum. Innerhalb von 9 Monaten nach Bestrahlungstherapie zeigten 60 % der Fälle Entzündungszeichen, nach mindestens 24 Monaten war dies bei allen Präparaten der Fall.

Wesentliche Fibrosierungen traten bei Gragoudas et al. (1993) zum erstgenannten Zeitpunkt bei 15 % der bestrahlten Tumoren auf, später waren es bereits 61 %. In unserer Studie waren bereits bei den Fällen bis zu 9 Monaten Fibrosierungszeichen in 80 % zu verzeichnen, zwischenzeitlich sank der Anteil jedoch wieder auf 40 % ab, um anschließend nach 2 Jahren wieder auf 75 % anzusteigen. In einer Studie von Messmer et al. (1992) [66] wurden 56 Bulbusenukleate, welche nach ^{106}Ru -Brachytherapie sekundär enukleiert wurden, miteinander verglichen. Diese zeigten bis zu 6 Monate nach Brachytherapie kaum Fibrosierungen, ab 6 Monaten dann jeweils circa 40 %. Radiogen bedingte narbige Fibrosierungen treten in der Regel frühestens nach 3 bis 4 Monaten nach Bestrahlung auf, in unserer Studie zeigte jedoch ein Fall bereits nach 2 Monaten Fibrosezeichen. Aufgrund der geringen Fallzahl pro Zeitintervall lässt eine genauere Aufschlüsselung der zeitlichen Korrelation von Fibrosierungen jedoch kaum relevante Schlüsse zu.

Nekrosen nach Strahlentherapie können zum Beispiel durch direkte Schädigung der Zelle oder im späteren Verlauf durch radiogen induzierte Stenosierung der Gefäße, mit anschließender Ischämie im nachfolgenden Gewebe, entstehen. [2, 54] Übereinstimmend mit der Studie von Gragoudas et al. (1993) sowie Messmer et al. (1992) war das Ausmaß an Nekrosen in unserer Studie in den ersten Monaten nach Bestrahlung höher und sank dann in der späten Gruppe auf niedrigere Werte. Bei Gragoudas et al. (1993) hatten 36 % der Präparate in der frühen Phase ein Nekroseareal von

mehr als 50 %, die nach 30 Monaten auf 14 % absanken. In unserer Studie waren es zunächst 20 % und nach mindestens 24 Monaten 0 %. Es ist deutlich zu sehen, dass nach einem Zeitabstand von mindestens 2 Jahren keine ausgeprägten Nekroseareale mehr vorhanden sind, sondern nur noch Nekroseareale bis maximal 25 %.

Eine zeitliche Korrelation des Auftretens von Gefäßschäden war bei der Studie von Gragoudas et al. (1993) nicht stark ausgeprägt. Sie konnten innerhalb von 12 Monaten nach Protonenbestrahlung bei 50 % der Tumoren gefunden werden, nach 30 Monaten bei 59 %. Wittekind et al. (2003) [113] beschrieben degenerative Gefäßveränderungen bei kolorektalen Karzinomen nach Radiochemotherapie eher als relativ späte Schäden. In unserer Studie zeigten sie sich im frühen Zeitintervall bei allen Fällen, im Zeitintervall von 10 bis 23 Monaten bei 60 % und nach über 23 Monaten wieder bei 75 % der Fälle.

17 % aller Tumoren zeigten bei Gragoudas et al. (1993) überhaupt Mitosefiguren. Das Vorkommen von Mitosefiguren nahm über die Zeit hinweg ab (≤ 12 Monate: 25 % und > 30 Monate: 7 %). In unserer Studie nahm das Vorkommen von Mitosefiguren im zeitlichen Verlauf zu (≤ 9 Monate: 0 % und ≥ 24 Monate: 67 %). Dies könnte auf eine Abnahme des Therapieeffekts mit zunehmendem Abstand zur Brachytherapie hinweisen. Möglicherweise wird diese Hypothese dadurch untermauert, dass in unserem untersuchten Kollektiv die Tumoren, welche aufgrund eines Tumorrezidivs sekundär enukleiert wurden, tendenziell höhere Proliferationsfraktionen, einerseits zu den Präparaten ohne Rezidiv, andererseits aber auch mit zunehmendem zeitlichen Abstand zur Radiotherapie, aufweisen.

Weiterhin gab es histologische Merkmale, welche in unserer Studie im zeitlichen Verlauf untersucht wurden, jedoch nicht in den erwähnten Studien von Gragoudas et al. (1993) bzw. Messmer et al. (1992). Diese waren Makrophagenhäufigkeit, Pyknosen/Karyorrhexis, Retinadegeneration sowie Zytoplasmaödem. Diese Merkmale zeigten sich in jedem Zeitabschnitt relativ stark, Unterschiede zwischen den

Zeitabschnitten gab es dabei kaum. Gleiches gilt auch für die Gefäßdilataationen, welche bei Wittekind et al. (2003) als früher Schaden nach Radiochemotherapie von kolorektalen Karzinomen beobachtet wurden, was in unserer Studie so nicht gezeigt werden konnte. Kernschwellungen waren sowohl im frühen als auch im späten Zeitabschnitt nach Brachytherapie häufig zu finden, im mittleren Zeitabschnitt waren sie kaum vorhanden.

Bezüglich der Entwicklung der Gefäßdichte im zeitlichen Verlauf zeigten sich in einer Publikation von Archer [4] Auswirkungen der durch Strahlen geschädigten Zellen wie gefäßbedingte Schädigungen des Auges sowie eine Abnahme der Gefäßdichte, erst zwei bis drei Jahre nach einer Bestrahlung. Er vermutete als Ursache, dass die Endothelzellen der Netzhaut eine sehr stabile Zellpopulation darstellen, von denen nur eine kleine Anzahl zu einem bestimmten Zeitpunkt mitotische Aktivitäten aufweist. Eine neuere Studie von Green et al. [37] zeigte eine relevante Abnahme der Gefäßdichte bereits nach 6 Monaten, welche sich im Laufe der Zeit noch verstärkte. Dies ist nicht übereinstimmend mit den Ergebnissen unserer Studie. Zwar zeigten die Präparate bei uns bereits zu einem frühen Zeitpunkt eine geringere Gefäßdichte, jedoch nahm der Anteil an Präparaten mit höherer Gefäßdichte mit zunehmendem zeitlichen Abstand zur Bestrahlung wieder zu.

5.5 Methodendiskussion

Diese monozentrische Studie wurde als retrospektive Fall-Kontroll-Studie konzipiert. Es ist die bislang umfangreichste Untersuchung mit 13 untersuchten Parametern an brachytherapierten Uveamelanomen. Im Gegensatz zu den Studien von Heindl et al. (2007) und Klaus et al. (1991) wurden neben mehreren histomorphologischen Parametern auch immunhistochemische Merkmale wie die Ki67- bzw. die CD68-Fraktion beurteilt. Dabei wurden auch die topografischen Merkmale im Bestrahlungsfeld mit berücksichtigt. Zusätzlich wurden die untersuchten Merkmale mit dem zeitlichen

Abstand zur stattgehabten Brachytherapie korreliert.

Die Arbeit weist jedoch auch Schwächen auf. Es konnte nur eine geringe Anzahl an Präparaten miteinander verglichen werden. Dies ist unter anderem darauf zurück zu führen, dass eine operative Therapie des Uveamelanoms heutzutage selten ist, da die Brachytherapie eine effektive Therapiemöglichkeit darstellt. Eine sekundäre Enukleation nach Brachytherapie wird nicht häufig durchgeführt (4,4 % bis 15 % nach fünf Jahren [102, 108]), da lokale Tumorrezidive und nicht tolerierbare Nebenwirkungen selten auftreten. Aus diesem Grund sind die sekundär enukleierten Fälle in dieser Studie zumeist negativ selektionierte Fälle. Ein Vergleich dieser Fälle mit Tumoren, welche primär operativ versorgt wurden, ist nicht optimal.

Ein weiterer Grund für die geringe Fallzahl ist, dass, um die vergleichende histologische Untersuchung an bestrahlten und nicht bestrahlten Uveamelanomen durchführen zu können, die Fälle und Kontrollen gepaart wurden, weshalb einige Präparate nicht in die Studie eingeschlossen wurden.

Vier der 14 Präparate der Fallgruppe waren sehr stark regredient oder hoch pigmentiert, sodass nicht alle histomorphologischen Merkmale an diesen Präparaten untersucht werden konnten, was ebenfalls eine Einschränkung der Studienergebnisse zur Folge hatte.

Aufgrund der geringen Anzahl sind auch die Vergleiche der histopathologischen Merkmale in ihrer Dosisabhängigkeit sowie im zeitlichen Verlauf limitiert.

Neben der geringen Anzahl der Fälle ist ein weiterer Schwachpunkt, dass die histopathologischen Parameter nur durch eine Pathologin erhoben wurden und somit die Ergebnisse nicht überprüft werden konnten.

6 Zusammenfassung

Das Uveamelanom ist der häufigste intraokulare Primärtumor des Erwachsenen. [63] Weltweit treten etwa 7095 Neuerkrankungen pro Jahr auf. [91] Die 5-Jahresüberlebensrate liegt trotz immer weiter entwickelter Therapiemöglichkeiten relativ konstant bei etwa 81,6 %. [99] In dieser Arbeit sollte die Auswirkung von zuvor durchgeführter brachytherapeutischer Behandlung auf die Histomorphologie von Uveamelanomen beschrieben werden. Dafür wurde eine retrospektive Studie durchgeführt, bei der insgesamt 43 Gewebepräparate von Uveamelanomen histologisch untersucht wurden. 14 dieser Präparate waren zuvor mit ^{106}Ru bestrahlt worden, 29 Präparate bildeten die zuvor nicht bestrahlte Kontrollgruppe. Die histologischen sowie immunhistochemischen Merkmale der Präparate wurden auf Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen hin geprüft. Ein signifikanter Unterschied konnte bei fünf Merkmalen festgestellt werden. Bei bestrahlten Präparaten fanden sich signifikant häufiger Nekrosen ($p = 0,007$), Gefäßwandfibrosen ($p = 0,012$), Entzündungszeichen ($p = 0,003$), Makrophagen ($p = 0,002$) sowie eine signifikant verringerte Proliferationsfraktion ($p = 0,021$).

Zudem wurde untersucht, ob ein Unterschied zwischen den einzelnen Abschnitten innerhalb eines Tumors bestand, um eventuelle dosisabhängige Folgen der Strahlentherapie innerhalb eines Tumors festzustellen. Ein signifikanter dosisabhängiger Unterschied zwischen den Tumorabschnitten ergab sich bei keinem der untersuchten Merkmale.

Die histomorphologischen Merkmale wurden noch zeitlich korreliert, um ggf. eine Einteilung in frühe und späte Reaktionen möglich zu machen. Diese Auswertung ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede. Im zeitlichen Verlauf ist aber bemerkenswert, dass ausgeprägte Nekroseareale nach zwei Jahren nicht mehr vorhanden sind. Sie können deshalb als typische Frühveränderungen gewertet werden. Sowohl

die Mitosefraktion als auch die Gefäßdichte in den Tumoren nehmen im zeitlichen Abstand nach Brachytherapie wieder zu, was auf einen abnehmenden Therapieeffekt hindeuten könnte.

Durch unsere Untersuchung konnte gezeigt werden, dass nach der Brachytherapie histopathologische Veränderungen an den Präparaten entstanden sind, welche sich signifikant von den nicht bestrahlten Kontrollpräparaten unterscheiden.

Literatur

- [1] AALTO, Y. ; ERIKSSON, L. ; SEREGARD, S. ; LARSSON, O. ; KNUUTILA, S. : Concomitant loss of chromosome 3 and whole arm losses and gains of chromosome 1, 6, or 8 in metastasizing primary uveal melanoma. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 42 (2001), Nr. 2, S. 313–317. – ISSN 1552–5783
- [2] AGAIMY, A. ; BAUMHOER, D. ; BODE, P. K. ; BODE-LESNIEWSKA, B. ; BRUDER, E. ; BUBENDORF, L. ; CATHOMAS, G. ; FRANK, S. ; GASPART, A. ; GLATZ, K. ; HOLLÄNDER, G. A. ; IMHOF, B. A. ; JOCHUM, W. ; KOMMINOTH, P. ; MEYER, P. ; MÜLLER, C. ; PERREN, A. ; ROHRMANN, S. ; SAVIC PRINCE, S. ; SOLTERMANN, A. ; SPINAS, G. A. ; WEBER, A. ; WILD, P. J. ; ZIMMERMANN, D. R. ; BÖCKER, W. ; HÖFLER, G. (Hrsg.) ; KREIPE, H. H. (Hrsg.) ; MOCH, H. (Hrsg.): *Pathologie : das Lehrbuch*. 6., vollständig überarbeitete Auflage. München : Elsevier, 2019. – ISBN 9783437423901
- [3] AMERICAN BRACHYTHERAPY SOCIETY - OPHTHALMIC ONCOLOGY TASK FORCE.: The American Brachytherapy Society consensus guidelines for plaque brachytherapy of uveal melanoma and retinoblastoma. In: *Brachytherapy* 13 (2014), Nr. 1, S. 1–14. – ISSN 1538–4721
- [4] ARCHER, D. B.: Responses of retinal and choroidal vessels to ionising radiation. In: *Eye* 7 (1993), Jan., Nr. 1, S. 1–13. DOI 10.1038/eye.1993.3. – ISSN 1476–5454
- [5] ARONOW, M. E. ; TOPHAM, A. K. ; SINGH, A. D.: Uveal Melanoma: 5-Year Update on Incidence, Treatment, and Survival (SEER 1973-2013). In: *Ocular oncology and pathology* 4 (2018), Apr, S. 145–151
- [6] ASTRAHAN, M. A.: A patch source model for treatment planning of ruthenium ophthalmic applicators. In: *Medical physics* 30 (2003), Nr. 6, S. 1219–1228. –

ISSN 0094–2405

- [7] AVERY, R. B. ; DIENER-WEST, M. ; REYNOLDS, S. M. ; GROSSNIKLAUS, H. E. ; GREEN, W. R. ; ALBERT, D. M.: Histopathologic characteristics of choroidal melanoma in eyes enucleated after iodine 125 brachytherapy in the collaborative ocular melanoma study. In: *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)* 126 (2008), Nr. 2, S. 207–212. – ISSN 1538–3601
- [8] BIANCIOTTO, C. ; SHIELDS, C. L. ; PIRONDINI, C. ; MASHAYEKHI, A. ; FURUTA, M. ; SHIELDS, J. A.: Vitreous hemorrhage after plaque radiotherapy for uveal melanoma. In: *Retina (Philadelphia, Pa.)* 32 (2012), Nr. 6, S. 1156–1164. – ISSN 1539–2864
- [9] BLUM, D. J. ; LUYTEN, G. P. ; MOOY, C. ; KERKVLIT, S. ; ZWINDERMAN, A. H. ; JAGER, M. J.: Human leukocyte antigen class I expression. Marker of poor prognosis in uveal melanoma. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 38 (1997), Nr. 9, S. 1865–1872. – ISSN 1552–5783
- [10] BORNFELD, N. : Diagnose und Therapie maligner Melanome der Uvea (Aderhaut und Ziliarkörper). In: *Ophthalmologe* (1992), S. 89: W61–W78
- [11] BRAUN, N. ; PAPADOPOULOS, T. ; MÜLLER-HERMELINK, H. K.: Cell cycle dependent distribution of the proliferation-associated Ki-67 antigen in human embryonic lung cells. In: *Virchows Archiv. B, Cell pathology including molecular pathology* 56 (1988), Nr. 1, S. 25–33. – ISSN 0340–6075
- [12] BRONKHORST, I. H. G. ; LY, L. V. ; JORDANOVA, E. S. ; VROLIJK, J. ; VERSLUIS, M. ; LUYTEN, G. P. M. ; JAGER, M. J.: Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 52 (2011), Nr. 2, S. 643–650. – ISSN 1552–5783
- [13] BÜTTNER, R. (Hrsg.) ; THOMAS, C. (Hrsg.): *Pathologie*. Bd. [1]: *Allgemeine Pathologie: Mit 15 Tabellen*. 3., erw. Aufl. Stuttgart [u.a.] : Schattauer, 2003. – ISBN 379452229X

- [14] CHAR, D. H. ; STONE, R. D. ; IRVINE, A. R. ; CRAWFORD, J. B. ; HILTON, G. F. ; LONN, L. I. ; SCHWARTZ, A. : Diagnostic modalities in choroidal melanoma. In: *American journal of ophthalmology* 89 (1980), Nr. 2, S. 223–230. – ISSN 0002–9394
- [15] CHEN, X. ; MANIOTIS, A. J. ; MAJUMDAR, D. ; PE’ER, J. ; FOLBERG, R. : Uveal melanoma cell staining for CD34 and assessment of tumor vascularity. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 43 (2002), Nr. 8, S. 2533–2539. – ISSN 1552–5783
- [16] COHEN, V. M. ; DINAKARAN, S. ; PARSONS, M. A. ; RENNIE, I. G.: Trans-vitreous fine needle aspiration biopsy: The influence of intraocular lesion size on diagnostic biopsy result. In: *Eye (London, England)* 15 (2001), Nr. Pt 2, S. 143–147. – ISSN 1476–5454
- [17] COLLABORATIVE OCULAR MELANOMA STUDY GROUP: Histopathologic Characteristics of Uveal Melanomas in Eyes Enucleated From the Collaborative Ocular Melanoma Study COMS report no. 6. In: *American journal of ophthalmology* 125 (1998), Jun, S. 745–66
- [18] CONWAY, R. M. ; CHEW, T. ; GOLCHET, P. ; DESAI, K. ; LIN, S. ; O’BRIEN, J. : Ultrasound biomicroscopy: role in diagnosis and management in 130 consecutive patients evaluated for anterior segment tumours. In: *The British journal of ophthalmology* 89 (2005), Nr. 8, S. 950–955. – ISSN 0007–1161
- [19] DAMATO, B. ; PATEL, I. ; CAMPBELL, I. R. ; MAYLES, H. M. ; ERRINGTON, R. D.: Local tumor control after 106Ru brachytherapy of choroidal melanoma. In: *International journal of radiation oncology, biology, physics* 63 (2005), Nr. 2, S. 385–391. – ISSN 0360–3016
- [20] DIENER-WEST, M. ; REYNOLDS, S. M. ; AGUGLIARO, D. J. ; CALDWELL, R. ; CUMMING, K. ; EARLE, J. D. ; HAWKINS, B. S. ; HAYMAN, J. A. ; JAIYESIMI, I. ; JAMPOL, L. M. ; KIRKWOOD, J. M. ; KOH, W.-J. ; ROBERTSON, D. M. ; SHAW,

- J. M. ; STRAATSMA, B. R. ; THOMA, J. : Development of metastatic disease after enrollment in the COMS trials for treatment of choroidal melanoma: Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26. In: *Archives of ophthalmology* 123 (2005), Nr. 12, S. 1639–1643
- [21] DITHMAR, S. ; CROWDER, J. ; JAGER, M. J. ; VIGNISWARAN, N. ; GROSS-NIKLAUS, H. E.: HLA-I-Antigenexpression korreliert mit dem histologischen Zelltyp uvealer Melanome: HLA class I antigen expression correlates with histological cell type in uveal melanomas. In: *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 99 (2002), Nr. 8, S. 625–628. – ISSN 0941–293X
- [22] DUKE-ELDER, S. ; PERKINS, E. S.: Diseases of the Uveal Tract. In: *S. Duke-Elder (Ed.) System of Ophthalmology. Vol IX. St. Louis: CV Mosby* (1966), S. 285–294
- [23] Eckert & Ziegler BEBIG GmbH. Ophthalmic Brachytherapy. *Broschüre*, (2018).
- [24] EDGE, S. B. (Hrsg.): *AJCC cancer staging manual*. 7. ed. New York [u.a.] : Springer, 2010. – ISBN 9780387884400
- [25] EIDE, N. ; WALAAS, L. : Fine-needle aspiration biopsy and other biopsies in suspected intraocular malignant disease: a review. In: *Acta ophthalmologica* 87 (2009), Nr. 6, S. 588–601. – ISSN 1755–3768
- [26] FABIAN, I. D. ; TOMKINS-NETZER, O. ; STOKER, I. ; ARORA, A. K. ; SAGOO, M. S. ; COHEN, V. M. L.: Secondary Enucleations for Uveal Melanoma: A 7-Year Retrospective Analysis. In: *American journal of ophthalmology* 160 (2015), Nr. 6, S. 1104–1110.e1. – ISSN 0002–9394
- [27] FARIDI, F. ; PONNUSAMY, K. ; QUAGLIANO-LO, C. I. ; CHEN-WICHMANN, L. ; GREZ, M. ; HENSCHLER, R. ; WICHMANN, C. : Aberrant epigenetic regulators control expansion of human CD34+ hematopoietic stem/progenitor cells. In: *Frontiers in genetics* 4 (2013), S. 254. – ISSN 1664–8021

- [28] FIELD, M. G. ; HARBOUR, J. W.: Recent developments in prognostic and predictive testing in uveal melanoma. In: *Current opinion in ophthalmology* 25 (2014), Nr. 3, S. 234–239. – ISSN 1040–8738
- [29] FILI, M. ; LUNDELL, G. ; LUNDELL, M. ; SEREGARD, S. : High dose rate and low dose rate ruthenium brachytherapy for uveal melanoma. No association with ocular outcome. In: *British Journal of Ophthalmology* 98 (2014), Nr. 10, 1349–1354. DOI 10.1136/bjophthalmol–2014–305055. – ISSN 0007–1161
- [30] FINA, L. ; MOLGAARD, H. V. ; ROBERTSON, D. ; BRADLEY, N. J. ; MONAGHAN, P. ; DELIA, D. ; SUTHERLAND, D. R. ; BAKER, M. A. ; GREAVES, M. F.: Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. In: *Blood* 75 (1990), Nr. 12, S. 2417–2426. – ISSN 0006–4971
- [31] FINGER, P. T.: Plaque radiation therapy for malignant melanoma of the iris and ciliary body. In: *American journal of ophthalmology* 132 (2001), Nr. 3, S. 328–335. – ISSN 0002–9394
- [32] FOLBERG, R. ; PE’ER, J. ; GRUMAN, L. M. ; WOOLSON, R. F. ; JENG, G. ; MONTAGUE, P. R. ; MONINGER, T. O. ; YI, H. ; MOORE, K. C.: The morphologic characteristics of tumor blood vessels as a marker of tumor progression in primary human uveal melanoma: A matched case-control study. In: *Human pathology* 23 (1992), Nr. 11, S. 1298–1305. – ISSN 0046–8177
- [33] GARCIA-VALENZUELA, E. : *Ciliary Body Melanoma (2011)*. <http://emedicine.medscape.com/article/1208487-overview>. Version: 29. Juni 2016
- [34] GEORGOPOULOS, M. ; ZEHETMAYER, M. ; RUHSWURM, I. ; TOMA-BSTAENDIG, S. ; SÉGUR-ELTZ, N. ; SACU, S. ; MENAPACE, R. : Tumour Regression of Uveal Melanoma after Ruthenium-106 Brachytherapy or Stereotactic Radiotherapy with Gamma Knife or Linear Accelerator. In: *Ophthalmologica* 217 (2003), Nr. 5, S. 315–319. – ISSN 1423–0267

- [35] GERDES, J. ; LEMKE, H. ; BAISCH, H. ; WACKER, H. H. ; SCHWAB, U. ; STEIN, H. : Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 133 (1984), Nr. 4, S. 1710–1715. – ISSN 0022–1767
- [36] GRAGOUDAS, E. S. ; EGAN, K. M. ; SAORNIL, M. A. ; WALSH, S. M. ; ALBERT, D. M. ; SEDDON, J. M.: The time course of irradiation changes in proton beam-treated uveal melanomas. In: *Ophthalmology* 100 (1993), Nr. 10, S. 1555–9; discussion 1560. – ISSN 1549–4713
- [37] GREEN, K. M. ; TOY, B. C. ; ASHIMATEY, B. S. ; MUSTAFI, D. ; JENNELLE, R. L. ; ASTRAHAN, M. A. ; CHU, Z. ; WANG, R. K. ; KIM, J. ; BERRY, J. L. ; KASHANI, A. H.: Quantifying Subclinical and Longitudinal Microvascular Changes Following Episcleral Plaque Brachytherapy Using Spectral Domain - Optical Coherence Tomography Angiography. In: *Journal of VitreoRetinal Diseases* 4 (2020), Aug., Nr. 6, S. 499–508. DOI 10.1177/2474126420936199. – ISSN 2474–1272
- [38] GROENEWALD, C. ; KONSTANTINIDIS, L. ; DAMATO, B. : Effects of radiotherapy on uveal melanomas and adjacent tissues. In: *Eye (London, England)* 27 (2013), Nr. 2, S. 163–171. – ISSN 1476–5454
- [39] GROUP, C. O. M. S.: The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma: V. Twelve-year mortality rates and prognostic factors: COMS report No. 28. In: *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)* 124 (2006), Nr. 12, S. 1684–1693. – ISSN 1538–3601
- [40] GÜNDÜZ, K. ; SHIELDS, C. L. ; SHIELDS, J. A. ; CATER, J. ; FREIRE, J. E. ; BRADY, L. W.: Plaque radiotherapy of uveal melanoma with predominant ciliary body involvement. In: *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)* 117 (1999), Nr. 2, S. 170–177. – ISSN 1538–3601
- [41] HANSEN, L. : *Augenheilkunde systematisch*. 2. Aufl. Bremen [u.a.] : UNI-MED-

- Verl., 2007 (Klinische Lehrbuchreihe). – ISBN 978–3–89599–156–1
- [42] HARBOUR, J. W.: A prognostic test to predict the risk of metastasis in uveal melanoma based on a 15-gene expression profile. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1102 (2014), S. 427–440. – ISSN 1064–3745
- [43] HEINDL, L. M. ; LOTTER, M. ; STRNAD, V. ; SAUER, R. ; NAUMANN, G. O. H. ; KNORR, H. L. J.: Hochdosisbrachytherapie des malignen Aderhaut- und Ziliarkörpermelanoms mit 106Ruthenium. Eine klinisch-pathologische Studie. In: *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 104 (2007), Nr. 2, S. 149–157. – ISSN 0941–293X
- [44] HENDERSON, E. ; MARGO, C. E.: Iris melanoma. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 132 (2008), Nr. 2, S. 268–272. – ISSN 1543–2165
- [45] HOLNESS, C. L. ; SIMMONS, D. L.: Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. In: *Blood* 81 (1993), Nr. 6, S. 1607–1613. – ISSN 0006–4971
- [46] HUNGERFORD, J. L.: Current trends in the treatment of ocular melanoma by radiotherapy. In: *Clinical & experimental ophthalmology* 31 (2003), Nr. 1, S. 8–13. – ISSN 1442–9071
- [47] JAMPOL, L. M. ; MOY, C. S. ; MURRAY, T. G. ; REYNOLDS, S. M. ; ALBERT, D. M. ; SCHACHAT, A. P. ; DIDDIE, K. R. ; ENGSTROM, R. E. JR ; FINGER, P. T. ; HOVLAND, K. R. ; JOFFE, L. ; OLSEN, K. R. ; WELLS, C. G.: The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma: IV. Local treatment failure and enucleation in the first 5 years after brachytherapy. COMS report no. 19. In: *Ophthalmology* 109 (2002), Nr. 12, S. 2197–2206. – ISSN 1549–4713
- [48] JOVANOVIC, P. ; MIHAJLOVIC, M. ; DJORDJEVIC-JOCIC, J. ; VLAJKOVIC, S. ; CEKIC, S. ; STEFANOVIC, V. : Ocular melanoma: an overview of the current status. In: *International journal of clinical and experimental pathology* 6 (2013),

- Nr. 7, S. 1230–1244. – ISSN 1936–2625
- [49] KAISERMAN, N. ; KAISERMAN, I. ; HENDLER, K. ; FRENKEL, S. ; PE'ER, J. : Ruthenium-106 plaque brachytherapy for thick posterior uveal melanomas. In: *British Journal of Ophthalmology* 93 (2009), Nr. 9, 1167–1171. DOI 10.1136/bjo.2009.157701. – ISSN 0007–1161
- [50] KANSKI, J. J.: *Klinische Ophthalmologie: Lehrbuch und Atlas*. 6., aktualisierte und erweiterte Auflage. München : Elsevier Urban & Fischer, 2008. – ISBN 3–437–23471–4
- [51] KIVELÄ, T. : Diagnosis of uveal melanoma. In: *Developments in ophthalmology* 49 (2012), S. 1–15. – ISSN 1662–2790
- [52] KLAUS, H. ; LOMMATZSCH, P. K. ; FUCHS, U. : Histopathology studies in human malignant melanomas of the choroid after unsuccessful treatment with 106Ru/106Rh ophthalmic applicators. In: *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 229 (1991), Nr. 5, S. 480–486. – ISSN 0721–832X
- [53] KUJALA, E. ; MÄKITIE, T. ; KIVELÄ, T. : Very Long-Term Prognosis of Patients with Malignant Uveal Melanoma. In: *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 44 (2003), Nr. 11, S. 4651. – ISSN 1552–5783
- [54] KUMAR, V. ; ABBAS, A. ; ASTER, J. : *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. Elsevier Health Sciences, 2014. – ISBN 9780323296359
- [55] LANZA, F. ; HEALY, L. ; SUTHERLAND: Structural and functional features of the CD34 antigen: An update. In: *Journal of biological regulators and homeostatic agents* 15 (2001), Nr. 1, S. 1–13. – ISSN 0393–974X
- [56] LAX, I. : Dosimetry of 106Ru eye applicators with a p-type silicon detector. In: *Physics in Medicine and Biology* 36 (1991), jul, Nr. 7, 963–972. DOI 10.1088/0031–9155/36/7/005
- [57] LIEB, W. E. ; ROHRBACH, J. M.: *Tumoren des Auges und seiner Adnexe:*

- Textbuch und Atlas unter besonderer Berücksichtigung des klinischen und morphologischen Bildes; mit 12 Tabellen.* Stuttgart [u.a.] : Schattauer, 1998. – ISBN 3794518071
- [58] LOMMATZSCH (Hrsg.): *Ophthalmologische Onkologie: 39 Tabellen.* Stuttgart : Enke, 1999. – ISBN 3–13–118011–0
- [59] LOMMATZSCH, P. K.: Results after beta-irradiation (106Ru/106Rh) of choroidal melanomas: 20 years' experience. In: *British Journal of Ophthalmology* 70 (1986), Nr. 11, 844–851. DOI 10.1136/bjo.70.11.844. – ISSN 0007–1161
- [60] MÄKITIE, T. ; SUMMANEN, P. ; TARKKANEN, A. ; KIVELÄ, T. : Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas. In: *Journal of the National Cancer Institute* 91 (1999), Nr. 4, S. 359–367. – ISSN 1460–2105
- [61] MÄKITIE, T. ; SUMMANEN, P. ; TARKKANEN, A. ; KIVELÄ, T. : Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+)) cells and prognosis in malignant uveal melanoma. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 42 (2001), Nr. 7, S. 1414–1421. – ISSN 1552–5783
- [62] MARWAHA, G. ; MACKLIS, R. ; SINGH, A. D. ; WILKINSON, A. : Brachytherapy. In: *Developments in ophthalmology* 52 (2013), S. 29–35. – ISSN 1662–2790
- [63] McLAUGHLIN, C. C. ; WU, X.-C. ; JEMAL, A. ; MARTIN, H. J. ; ROCHE, L. M. ; CHEN, V. W.: Incidence of noncutaneous melanomas in the U.S. In: *Cancer* 103 (2005), Nr. 5, S. 1000–1007. – ISSN 0008–543X
- [64] McLEAN, I. W. ; FOSTER, W. D. ; ZIMMERMAN, L. E. ; GAMEL, J. W.: Modifications of Callender's classification of uveal melanoma at the Armed Forces Institute of Pathology. In: *American journal of ophthalmology* 96 (1983), Nr. 4, S. 502–509. – ISSN 0002–9394
- [65] MELLEN, P. L. ; MORTON, S. J. ; SHIELDS, C. L.: American joint committee on cancer staging of uveal melanoma. In: *Oman journal of ophthalmology* 6

- (2013), Nr. 2, S. 116–118. – ISSN 0974–7842
- [66] MESSMER, E. ; BORNFELD, N. ; FOERSTER, M. ; SCHILLING, H. ; WESSING, A. : Histopathologic findings in eyes treated with a ruthenium plaque for uveal melanoma. In: *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 230 (1992), Nr. 4, S. 391–396. DOI 10.1007/bf00165952. – ISSN 1435–702X
- [67] MOR, J. M. ; KOCH, K. R. ; HEINDL, L. M.: Diagnostik und Therapie von Irisläsionen. In: *Klin Monatsbl Augenheilkd* 234 (12.1), Nr. 12, S. 1541–1554. – ISSN 0023–2165
- [68] MOSSBÖCK, G. ; RAUSCHER, T. ; WINKLER, P. ; KAPP, K. S. ; LANGMANN, G. : Impact of Dose Rate on Clinical Course in Uveal Melanoma after Brachytherapy with Ruthenium-106. In: *Strahlentherapie und Onkologie* 183 (2007), Oct, Nr. 10, 571–575. DOI 10.1007/s00066–007–1734–x. – ISSN 1439–099X
- [69] ONKEN, M. D. ; LA WORLEY ; EHLERS, J. P. ; HARBOUR, J. W.: Gene expression profiling in uveal melanoma reveals two molecular classes and predicts metastatic death. In: *Cancer research* 64 (2004), Nr. 20, S. 7205–7209. – ISSN 0008–5472
- [70] ONKEN, M. D. ; WORLEY, L. A. ; DAVILA, R. M. ; CHAR, D. H. ; HARBOUR, J. W.: Prognostic testing in uveal melanoma by transcriptomic profiling of fine needle biopsy specimens. In: *The Journal of molecular diagnostics : JMD* 8 (2006), Nr. 5, S. 567–573. – ISSN 1525–1578
- [71] PAPAGEORGIOU, K. I. ; COHEN, V. M. L. ; BUNCE, C. ; KINSELLA, M. ; HUNGERFORD, J. L.: Predicting local control of choroidal melanomas following 106Ru plaque brachytherapy. In: *British Journal of Ophthalmology* 95 (2011), Nr. 2, 166–170. DOI 10.1136/bjo.2009.176198. – ISSN 0007–1161
- [72] PE'ER, J. ; STEFANI, F. H. ; SEREGARD, S. ; KIVELA, T. ; LOMMATZSCH, P. ; PRAUSE, J. U. ; SOBOTTKA, B. ; DAMATO, B. ; CHOWERS, I. : Cell proliferation activity in posterior uveal melanoma after Ru-106 brachytherapy: an EORTC

- ocular oncology group study. In: *The British journal of ophthalmology* 85 (2001), Nr. 10, S. 1208–1212. – ISSN 0007–1161
- [73] PE'ER, J. : Ruthenium-106 brachytherapy. In: *Developments in ophthalmology* 49 (2012), S. 27–40. – ISSN 1662–2790
- [74] PEREIRA, P. R. ; ODASHIRO, A. N. ; LIM, L.-A. ; MIYAMOTO, C. ; BLANCO, P. L. ; ODASHIRO, M. ; MALONEY, S. ; SOUZA, D. F. ; BURNIER, M. N.: Current and emerging treatment options for uveal melanoma. In: *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)* 7 (2013), S. 1669–1682. – ISSN 1177–5467
- [75] PETRAUSCH, U. ; MARTUS, P. ; TONNIES, H. ; BECHRAKIS, N. E. ; LENZE, D. ; WANSEL, S. ; HUMMEL, M. ; BORNFELD, N. ; THIEL, E. ; FOERSTER, M. H. ; KEILHOLZ, U. : Significance of gene expression analysis in uveal melanoma in comparison to standard risk factors for risk assessment of subsequent metastases. In: *Eye (London, England)* 22 (2008), Nr. 8, S. 997–1007. – ISSN 1476–5454
- [76] PRESCHER, G. ; BORNFELD, N. ; HIRCHE, H. ; HORSTHEMKE, B. ; JÖCKEL, K. H. ; BECHER, R. : Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. In: *Lancet (London, England)* 347 (1996), Nr. 9010, S. 1222–1225. – ISSN 1474–547X
- [77] PULFORD, K. A. ; SIPOS, A. ; CORDELL, J. L. ; STROSS, W. P. ; MASON, D. Y.: Distribution of the CD68 macrophage/myeloid associated antigen. In: *International immunology* 2 (1990), Nr. 10, S. 973–980. – ISSN 0953–8178
- [78] RAOOF, N. ; RENNIE, I. G. ; SALVI, S. M. ; SISLEY, K. ; CAINE, A. ; MUDHAR, H. S.: What is the significance of vortex vein invasion in uveal melanoma? In: *Eye (London, England)* 23 (2009), Nr. 8, S. 1661–1667. – ISSN 1476–5454
- [79] RIEDE, U.-N. (Hrsg.) ; BIANCHI, L. (Hrsg.): *Allgemeine und spezielle Pathologie: 168 Tabellen*. 5., komplett überarb. Aufl. Stuttgart : Thieme, 2004. – ISBN 3–13–683305–8
- [80] ROUBEROL, F. ; ROY, P. ; KODJIKIAN, L. ; GERARD, J. P. ; JEAN-LOUIS,

- B. ; GRANGE, J. D.: Survival, anatomic, and functional long-term results in choroidal and ciliary body melanoma after ruthenium brachytherapy (15 years' experience with beta-rays). In: *American journal of ophthalmology* 137 (2004), Nr. 5, S. 893–900. – ISSN 0002–9394
- [81] SACHSENWEGER, M. (Hrsg.) ; KLAUSS, V. (Hrsg.): *Augenheilkunde: 73 Tabellen*. 2., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart : Thieme, 2003 (Duale Reihe). – ISBN 3131283122
- [82] SCHILLING, H. ; SEHU, K. W. ; LEE, W. R.: A histologic study (including DNA quantification and Ki-67 labeling index) in uveal melanomas after brachytherapy with ruthenium plaques. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 38 (1997), Nr. 10, S. 2081–2092. – ISSN 1552–5783
- [83] SCHLINGEMANN, R. O. ; RIETVELD, F. J. ; WAAL, R. M. ; BRADLEY, N. J. ; SKENE, A. I. ; DAVIES, A. J. ; GREAVES, M. F. ; DENEKAMP, J. ; RUITER, D. J.: Leukocyte antigen CD34 is expressed by a subset of cultured endothelial cells and on endothelial abluminal microprocesses in the tumor stroma. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 62 (1990), Nr. 6, S. 690–696. – ISSN 0023–6837
- [84] SCHÜLER, A. O. ; BORNFELD, N. : Aktuelle Therapieaspekte intraokularer Tumoren. In: *Der Ophthalmologe* 97 (2000), Nr. 3, S. 207–222. – ISSN 0941–293X
- [85] SEREGARD, S. ; TRAMPE, E. af ; LAX, I. ; KOCK, E. ; LUNDELL, G. : Results following episcleral ruthenium plaque radiotherapy for posterior uveal melanoma The Swedish experience. In: *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 75 (1997), Nr. 1, 11-16. DOI 10.1111/j.1600–0420.1997.tb00241.x
- [86] SHAH, C. P. ; WEIS, E. ; LAJOUS, M. ; SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L.: Intermittent and chronic ultraviolet light exposure and uveal melanoma: a meta-analysis. In: *Ophthalmology* 112 (2005), Nr. 9, S. 1599–1607. – ISSN

1549–4713

- [87] SHIELDS, C. L. ; SHIELDS, J. A. ; GROSS, N. E. ; SCHWARTZ, G. P. ; LALLY, S. E.: Survey of 520 eyes with uveal metastases. In: *Ophthalmology* 104 (1997), Nr. 8, S. 1265–1276. – ISSN 1549–4713
- [88] SHIELDS, C. L. ; SHIELDS, J. A. ; POTTER, P. de ; SINGH, A. D. ; HERNANDEZ, C. ; BRADY, L. W.: Treatment of non-resectable malignant iris tumours with custom designed plaque radiotherapy. In: *The British journal of ophthalmology* 79 (1995), Nr. 4, S. 306–312. – ISSN 0007–1161
- [89] SHIELDS, C. L. ; FURUTA, M. ; THANGAPPAN, A. ; NAGORI, S. ; MASHAYEKHI, A. ; LALLY, D. R. ; KELLY, C. C. ; RUDICH, D. S. ; NAGORI, A. V. ; WAKADE, O. A. ; MEHTA, S. ; FORTE, L. ; LONG, A. ; DELLACAVA, E. F. ; KAPLAN, B. ; SHIELDS, J. A.: Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. In: *Archives of ophthalmology* 127 (2009), Nr. 8, S. 989–998. – ISSN 1538–3601
- [90] SHIELDS, C. L. ; KALIKI, S. ; FURUTA, M. ; MASHAYEKHI, A. ; SHIELDS, J. A.: Clinical spectrum and prognosis of uveal melanoma based on age at presentation in 8,033 cases. In: *Retina (Philadelphia, Pa.)* 32 (2012), Nr. 7, S. 1363–1372. – ISSN 1539–2864
- [91] SHIELDS, C. L. ; KELS, J. G. ; SHIELDS, J. A.: Melanoma of the eye: revealing hidden secrets, one at a time. In: *Clinics in dermatology* 33 (2015), Nr. 2, S. 183–196. – ISSN 1879–1131
- [92] SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L. ; EHYA, H. ; EAGLE, R. C. ; POTTER, P. de: Fine-needle aspiration biopsy of suspected intraocular tumors. The 1992 Urwick Lecture. In: *Ophthalmology* 100 (1993), Nr. 11, S. 1677–1684. – ISSN 1549–4713
- [93] SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L.: *Atlas of intraocular tumors*. Philadelphia and Pa. and London : Lippincott Williams & Wilkins, 1999. – ISBN 078171916X

- [94] SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L.: *Intraocular tumors: An atlas and textbook*. 2. Philadelphia and Pa : Wolters Kluwer / Lippincott Williams & Wilkins Health, 2008. – ISBN 978–0–7817–7581–6
- [95] SHIMOSATO, Y. : Histological evaluation of effects of radiotherapy and chemotherapy for carcinomas. In: *Jpn J Clin Oncol* 1 (1971), S. 19–35
- [96] SIDNEY, L. E. ; BRANCH, M. J. ; DUNPHY, S. E. ; DUA, H. S. ; HOPKINSON, A. : Concise review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. In: *Stem cells (Dayton, Ohio)* 32 (2014), Nr. 6, S. 1380–1389. – ISSN 1549–4918
- [97] SIEMERINK, M. J. ; KLAASSEN, I. ; IM VOGELS ; GRIFFIOEN, A. W. ; VAN NOORDEN, C. J. ; SCHLINGEMANN, R. O.: CD34 marks angiogenic tip cells in human vascular endothelial cell cultures. In: *Angiogenesis* 15 (2012), Nr. 1, S. 151–163. – ISSN 1573–7209
- [98] SINGH, A. D. ; POTTER, P. de ; FIJAL, B. A. ; SHIELDS, C. L. ; SHIELDS, J. A. ; ELSTON, R. C.: Lifetime prevalence of uveal melanoma in white patients with oculo(dermal) melanocytosis. In: *Ophthalmology* 105 (1998), Nr. 1, S. 195–198. – ISSN 1549–4713
- [99] SINGH, A. D. ; TURELL, M. E. ; TOPHAM, A. K.: Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. In: *Ophthalmology* 118 (2011), Nr. 9, S. 1881–1885. – ISSN 1549–4713
- [100] SINGH, P. ; SINGH, A. : Choroidal melanoma. In: *Oman journal of ophthalmology* 5 (2012), Nr. 1, S. 3–9. – ISSN 0974–7842
- [101] STARR, O. D. ; PATEL, D. V. ; ALLEN, J. P. ; MCGHEE, C. N. J.: Iris melanoma: pathology, prognosis and surgical intervention. In: *Clinical & experimental ophthalmology* 32 (2004), Nr. 3, S. 294–296. – ISSN 1442–9071
- [102] SUMMANEN, P. ; IMMONEN, I. ; KIVELA, T. ; TOMMILA, P. ; HEIKKONEN, J. ; TARKKANEN, A. : Radiation related complications after ruthenium plaque

- radiotherapy of uveal melanoma. In: *The British journal of ophthalmology* 80 (1996), Nr. 8, S. 732–739. – ISSN 0007–1161
- [103] SUTHERLAND, D. R. ; WATT, S. M. ; DOWDEN, G. ; KARHI, K. ; BAKER, M. A. ; GREAVES, M. F. ; SMART, J. E.: Structural and partial amino acid sequence analysis of the human hemopoietic progenitor cell antigen CD34. In: *Leukemia* 2 (1988), Nr. 12, S. 793–803. – ISSN 0887–6924
- [104] TISCHOFF, I. ; TANNAPFEL, A. : Regressionsgrading bei gastrointestinalen Tumoren. In: *Der Pathologe* 33 (2012), Nr. 1, S. 53–60. – ISSN 0172–8113
- [105] TJHO-HESLINGA, R. ; KAKEBEEKE-KEMME, H. ; DAVELAAR, J. ; VROOME, H. de ; BLEEKER, J. ; OOSTERHUIS, J. ; LEERS, J. : Results of ruthenium irradiation of uveal melanoma. In: *Radiotherapy and Oncology* 29 (1993), Nr. 1, 33 - 38. DOI 10.1016/0167–8140(93)90170–D. – ISSN 0167–8140
- [106] TRAWEEK, S. T. ; KANDALAFT, P. L. ; MEHTA, P. ; BATTIFORA, H. : The human hematopoietic progenitor cell antigen (CD34) in vascular neoplasia. In: *American journal of clinical pathology* 96 (1991), Nr. 1, S. 25–31. – ISSN 0002–9173
- [107] VAN GILS, W. ; LODDER, E. M. ; MENSINK, H. W. ; KILIC, E. ; NAUS, N. C. ; BRUGGENWIRTH, H. T. ; VAN IJCKEN, W. ; PARIDAENS, D. ; LUYTEN, G. P. ; KLEIN, A. de: Gene expression profiling in uveal melanoma: two regions on 3p related to prognosis. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 49 (2008), Nr. 10, S. 4254–4262. – ISSN 1552–5783
- [108] VERSCHUEREN, K. M. ; CREUTZBERG, C. L. ; SCHALIJ-DELFOOS, N. E. ; KETELAARS, M. ; KLIJSEN, F. L. ; HAESEKER, B. I. ; LIGTENBERG, S. M. ; KEUNEN, J. E. ; MARIJNEN, C. A.: Long-term outcomes of eye-conserving treatment with Ruthenium106 brachytherapy for choroidal melanoma. In: *Radiotherapy and Oncology* 95 (2010), Nr. 3, 332 - 338. DOI 10.1016/j.radonc.2010.03.023. – ISSN 0167–8140

- [109] WEIS, E. ; SALOPEK, T. G. ; MCKINNON, J. G. ; LAROCQUE, M. P. ; TEMPLE-OBERLE, C. ; CHENG, T. ; MCWHAE, J. ; SLOBODA, R. ; SHEA-BUDGELL, M. : Management of uveal melanoma: a consensus-based provincial clinical practice guideline. In: *Current oncology (Toronto, Ont.)* 23 (2016), Nr. 1, S. e57–64. – ISSN 1198–0052
- [110] WEIS, E. ; SHAH, C. P. ; LAJOUS, M. ; SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L.: The association between host susceptibility factors and uveal melanoma: a meta-analysis. In: *Archives of ophthalmology* 124 (2006), Nr. 1, S. 54–60. – ISSN 1538–3601
- [111] WEIS, E. ; SHAH, C. P. ; LAJOUS, M. ; SHIELDS, J. A. ; SHIELDS, C. L.: The association of cutaneous and iris nevi with uveal melanoma: a meta-analysis. In: *Ophthalmology* 116 (2009), Nr. 3, S. 536–543.e2. – ISSN 1549–4713
- [112] WILLERDING, G. ; HEUFELDER, J. ; KAKKASSERY, V. ; CORDINI, D. ; JOUSSEN, A. M.: Strahlenretinopathie. In: JOUSSEN, A. M. (Hrsg.): *Retinale Gefäßerkrankungen*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2012. – ISBN 978–3–642–18020–0, S. 305–319
- [113] WITTEKIND, C. ; TANNAPFEL, A. : Regressionsgrading des präoperativ-radiochemotherapierten Rektumkarzinoms. Eine Bestandsaufnahme. In: *Der Pathologe* 24 (2003), Nr. 1, S. 61–65. – ISSN 1432–1963
- [114] WORLEY, L. A. ; ONKEN, M. D. ; PERSON, E. ; ROBERTS, D. ; BRANSON, J. ; CHAR, D. H. ; PERRY, A. ; HARBOUR, J. W.: Transcriptomic versus chromosomal prognostic markers and clinical outcome in uveal melanoma. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 13 (2007), Nr. 5, S. 1466–1471. – ISSN 1078–0432
- [115] ZEHETMAYER, M. : Stereotactic photon beam irradiation of uveal melanoma. In: *Developments in ophthalmology* 49 (2012), S. 58–65. – ISSN 1662–2790

Thesen

1. Das Uveamelanom ist mit 82,5 % der häufigste Primärtumor des Auges beim Erwachsenen. Weltweit liegt die Inzidenz bei etwa 7095 Fällen pro Jahr. Die Geschlechterverteilung ist etwa ausgeglichen und der Altersmedian liegt bei etwa 62 Jahren.
2. Die 5-Jahresüberlebensrate liegt bei etwa 81,6 % und die 10-Jahresüberlebensrate liegt bei circa 57 %, wobei sich die Prognose nach Auftreten von Metastasen, in erster Linie Lebermetastasen, rasch verschlechtert.
3. Zu den Therapiemöglichkeiten gehören unter anderem die chirurgische Entfernung des Tumorgewebes, die Protonenbestrahlung, die stereotaktische Cyberknife Radiochirurgie, die Fotokoagulation, die Transpupilläre Thermotherapie sowie die Brachytherapie mittels Ruthenium 106 oder Jod 125.
4. Die Häufigkeit der chirurgischen Therapie von Uveamelanomen ist in den letzten Jahren gesunken, weshalb eine histologische Untersuchung dieser Tumoren seltener möglich ist. Eine Indikation zur chirurgischen Therapie nach Bestrahlung stellen zum Beispiel erneutes Tumorwachstum, fehlende Regression oder sekundäre Komplikationen dar.
5. Von Interesse sind bei dieser Arbeit die Auswirkungen von zuvor durchgeführter brachytherapeutischer Behandlung auf die Histomorphologie von Uveamelanomen. Zudem soll festgestellt werden, ob dosisabhängige Folgen der Bestrahlung innerhalb eines Tumors zu erkennen sind sowie ob sich bestimmte Veränderungen in Abhängigkeit zum zeitlichen Abstand zur Bestrahlung ergeben.
6. Durch die Radiotherapie von Tumoren sollen gewebezerstörende Prozesse einsetzen, welche zur Schrumpfung bzw. Elimination von Tumorgewebe führen.

Mit dieser retrospektiven Studie sollte untersucht werden, ob sich diese Prozesse in vorliegenden Gewebepräparaten morphologisch effektiv nachweisen lassen.

7. Untersucht wurden 43 Bulbusenukleate mit Uveamelanomen, welche zwischen Januar 2000 und Dezember 2013 im Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock histologisch aufgearbeitet und untersucht wurden. Diese wurden in zwei Gruppen eingeteilt, von denen die Tumoren der einen Gruppe vor der Enukleation brachytherapeutisch behandelt worden waren und die anderen nicht. Die erhobenen klinischen sowie ophthalmologischen Merkmale zwischen den beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant.
8. Es wurden folgende histomorphologische sowie immunhistochemische Merkmale in beiden Gruppen untersucht und verglichen: Nekrosen, Fibrosierung, Gefäßwandfibrose, Mitosen, Proliferationsfrequenz, Entzündung, Makrophagenanzahl, Retinadegeneration, Kernschwellungen, Kernpyknosen sowie Karyorrhexis, Zytoplasmaödem, Gefäßdilatation und die Gefäßdichte. Dies waren unter anderem Merkmale, welche in Studien bezüglich der Histomorphologie anderer Tumorentitäten oder auch Uveamelanomen Unterschiede zeigten.
9. Histomorphologische Veränderungen wie Nekrosen, Gefäßwandfibrosen, Entzündung, Ansammlungen von Makrophagen sind in der Gruppe nach Bestrahlung im Vergleich zur unbestrahlten Patientengruppe signifikant häufiger, dagegen ist die Proliferationsfraktion (Ki67-Index) in den unbestrahlten Tumorgeweben signifikant höher als im Tumorgewebe nach Radiotherapie.
10. Ein dosisabhängiger Unterschied innerhalb des Tumorgewebes von der Basis bis zur Tumorspitze zeigte sich nicht.
11. Im zeitlichen Verlauf stellen Nekrosen frühe Veränderungen nach Brachytherapie dar. Die Proliferationsfraktion sowie die Gefäßdichte nehmen im zeitlichen Abstand zur Radiotherapie zu.