Aus der

Universitäts-Hautklinik Tübingen
Sektion Dermatologische Onkologie

Einfluss des CMV-Serostatus auf Überleben von Melanompatienten unter Immuncheckpointinhibitionstherapie

**Inaugral-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

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

vorgelegt von

Narasinghe, Amandi Rasara

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. L. Flatz
2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Fend

Tag der Disputation: 24.06.2025

Gewidmet meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1.) Einleitung 1
1.1 Melanom Definition 1
1.2 Melanom Epidemiologie 1
1.3 Melanom Klassifikation und Stadieneinteilung 2
1.4 Melanom Diagnose und Therapie 4
1.4.1 Checkpoint-Inhibitoren 5
1.5 CMV 8
1.6 CMV Immunsystem Interaktion 10
1.6.1 CMV und Tumorprogression 12
1.7 Fragestellungen 14
2.) Material und Methoden 16
2.1 Patientenkollektiv 16
2.2 Fallzahlberechnung 16
2.3 CMV-Serologie 17
2.4 Erhebung 17
2.5 Statistik 17
2.6 Ethik 18
3.) Ergebnisse 19
3.1 Fallzahl 19
3.2 Patientencharakteristika 20
3.3 Auswirkung der Reaktivität auf das Überleben 26
3.3.1. Progressionsfreies Intervall 26
3.3.2 Gesamtüberleben 28
3.4 Auswirkung der Therapieart auf das Überleben 30
3.4.1 Progressionsfreies Intervall 31
3.4.2 Gesamtüberleben 32
3.5 Cox-Regressionsanalyse im Gesamtüberleben 34
3.6 Zunahme der Seroprävalenz mit ansteigendem Alter 36
3.7 Zusammenhang Tumordicke und Reaktivität 38
4.) Diskussion 41
4.1 Reaktivität und Überleben 41

4.2 Therapieart und Überleben 45
4.3 Seroprävalenz im Alter 47
4.4 Verschiedene Faktoren und Überleben 48
5.) Zusammenfassung 53
6.) Literaturverzeichnis 55
7.) Erklärung zum Eigenanteil 67
8.) Danksagung 68

I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Altersverteilung 21
Abbildung 2 Verteilung Tumordicke 22
Abbildung 3 Follow-Up nach reverse Kaplan-Meier-Kurve 24
Abbildung 4 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier-Kurve für das Stadium III bei erfolgter adjuvanter Therapie 27
Abbildung 5 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier Kurve im Stadium IV bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie 28
Abbildung 6 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurve im Stadium III bei adjuvanter Therapie 29
Abbildung 7 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurve im Stadium IV bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie 30
Abbildung 8 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier-Kurven im Stadium IV unter Mono- und Kombinationstherapie 32
Abbildung 9 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurven im Stadium IV unter Mono- und Kombinationstherapie 33
Abbildung 10 Zunahme Seroprävalenz mit aufsteigendem Alter nach 10-Jahres-Intervall im Balkendiagramm 37
Abbildung 11 Zunahme Seroprävalenz mit aufsteigendem Alter nach 25-Jahres-Intervall im Balkendiagramm 38
Abbildung 12 T-Status nach Reaktivität für einen Chi²-Test im Balkendiagramm 40

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Ergebnisse Fallzahlberechnung für einen Log-Rank-Test mit unterschiedlichen Proportionen der Überlebenswahrscheinlichkeiten in der CMV positiven und CMV negativen Gruppe 19
Tabelle 2 Patientencharakteristika 25
Tabelle 3 Hazard Ratios der einzelnen Variablen mit 95% Konfidenzintervall .. 35

III. Formelverzeichnis

(1) 17

IV. Abkürzungsverzeichnis

AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	Akrolentiginöses Melanom
BRAF	B-rapidly accelerated fibrosarcoma
CD	Cluster of Differentiation
CMV	Cytomegalievirus
CRP	C-reaktives Protein
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
CTLA-4	Cytotoxic-T-Lymphocyte-associated-protein 4
DNA	Deoxyribonucleic acid
EBV	Epstein-Barr-Virus
HR	Hazard Ratio
ICI	Immuncheckpoint-Inhibitoren
IFN-Y	Interferon-gamma
IL-6	Interleukin-6
KI	Konfidenzintervall
LMM	Lentigo-maligna Melanom
MAP	Mitogen-activated protein
MHC	Major Histocompatibility Complex
MICB	MHC class I chain-related B-gene
NM	Noduläres Melanom
PD-1	Programmed death protein 1
PD-L1	Programmed death-ligand 1
SSM	Superfiziell spreitendes Melanom

TNF	Tumornekrosefaktor
UL	Unique Long region
ULBP	UL16-binding protein
US	Unique Short region

1.) Einleitung

1.1 Melanom Definition

Unter einem Melanom, bekannt auch als Schwarzer Hautkrebs, versteht man die bösartige Transformation von Pigmentzellen, den sogenannten Melanozyten, die sich im Stratum basale der Epidermis befinden. Klinisch zeigt es sich unterschiedlich pigmentiert, braun bis schwarz, mit inhomogenen Grenzverlauf und asymmetrischer Form. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zu einem aggressiven Wachstum in der Horizontalen und später auch in die vertikalen Hautschichten. Melanozyten stammen ursprünglich von der Neuralleiste ab, damit gelingt es den transformierten Zellen durch die Eigenschaft der Expression von Signalmolekülen und Migration in andere Hautschichten sich rasch zu metastasieren[1]. Unbehandelt verläuft diese Tumorerkrankung innerhalb kürzester Zeit tödlich.

1.2 Melanom Epidemiologie

Die Inzidenz maligner Melanome ist in der Zeitspanne von 1975 bis 2018 innerhalb von etwa vier Dekaden um 320% angestiegen[2]. Allein unter der hellhäutigen weltweiten Bevölkerung kommt es jährlich zu einem Anstieg von 3%-7% an Neuerkrankungen[3].

In Europa beträgt die jährliche Inzidenz 10-25 Fälle pro 100.000 Einwohnern mit steigender Tendenz[4]. Schaut man sich die Zahlen in Deutschland an, erkrankten z.B. im Jahre 2022 etwa 25.000 Neupatienten an einem kutanem Melanom[5]. Im Jahre 2012 lag die Zahl der Neuerkrankungen dagegen bei knapp 21.000 Patienten[6].

Bei den Geschlechtern lässt sich die wachsende Inzidenz anhand des Anstiegs von 1999 bis 2012 zusätzlich verdeutlichen, bei der die Anzahl pro Jahr von 13,7

Fällen auf 26,5 Fällen pro 100.000 Männern registriert wurde. Bei Frauen hingegen ließ sich ein etwas geringerer Anstieg von 16,5 Fällen auf 25,3 Fällen ermitteln[7].

Das Robert Koch-Institut zeigte auf, dass es im Jahre 2008 zu einem rasanten Anstieg der neuaufgezeichneten Melanomneuerkrankungen kam, welche sich vermutlich durch die damals neu eingeführte Hautkrebs-Screening-Untersuchung erklären lässt[8,9]. Die Sterberate ist hingegen konstant, trotz der steigenden Inzidenzrate, und kann durch die frühere Diagnostik in Anfangsstadien begründet werden. Bei rechtzeitiger Diagnostik ist die Einleitung einer Therapie mit kurativer Absicht eher gegeben[7]. Es ist jedoch zu erwähnen, dass von allen Hautkrebsarten, das maligne Melanom etwa 90% aller Sterbefälle ausmacht und damit prognostisch gesehen am ungünstigsten ist[10].

Das durchschnittliche Alter mit der Diagnose des malignen Melanoms konfrontiert zu werden, unterscheidet sich bei Frauen und Männern. So erkrankten im Jahre 2020 Frauen durchschnittlich im Alter von 63 Jahren, Männer hingegen 6 Jahre später im Alter von 69 Jahren[9].

Risikofaktoren, die eine signifikante Korrelation mit dem Auftreten der Erkrankung aufweisen, sind zum einen die intermittierende und intensive Aussetzung der UV-Strahlung, insbesondere die Anzahl an Sonnenbränden, die Familienhistorie, bereits vorhandene Nävi, fortgeschrittenes Alter und der ethnisch prädisponierte weiße Hauttyp[11]. In der Studie von Keim et al konnte nachgewiesen werden, dass mehr als 90% der kutanen Melanomfälle in Deutschland und Dänemark der Aussetzung an UV-Strahlung zurückzuführen sind[12].

1.3 Melanom Klassifikation und Stadieneinteilung

Bereits in den 70er Jahren veröffentlichte Clark et al seine Einteilung des malignen Melanoms in vier große Subtypen, bei der das superfiziell spreitende Melanom (SSM) mit ca. 50% die am häufigsten vorkommende Variante ist.

Gefolgt von dem nodulärem Melanom (NM), dem Lentigo-maligna-Melanom (LMM) und dem akrolentiginösem Melanom (ALM)[13].

Die American Joint Committee on Cancer [AJCC] aktualisierte in ihrer 8. Version ihre bisherige Gliederung der TNM-Klassifikation[7]. Erneuert haben sich zum Beispiel die genauere Definition der Tumordicke der T1 Tumore, die Tumormitoserate für das Staging der T1 Tumore wurde entfernt und die Ulzeration des Primärtumors wurde eingefügt[7,14].

Die S3 Leitlinie für Melanome aus dem Jahr 2020 gibt die TNM-Klassifikation wieder. Sie ermöglicht damit eine präzise Einteilung nach den zuzutreffenden Kriterien für den Primärtumor (T), die regionären Lymphknoten (N) und vorhandener Fernmetastasen (M). Anhand der vorgegebenen Klassifikation kann der Schweregrad und das Stadium ermittelt werden und damit die optimale Therapie für jeden individuellen Fall bestimmt werden.

Im Folgenden wird grob die Stadieneinteilung erläutert:

Der Ulzerationsstatus im Stadium I und II wird mit den Buchstaben a= *ohne Ulzeration* und b= *mit Ulzeration* ergänzt.

Stadium 0 umfasst dabei alle in-Situ Tumore (Tis-Status), ohne jegliche Metastasierungshinweise (N0 und M0).

Stadium I umschließt Patienten mit

- Tumoren bis zu einer Tumordicke von ≤ 1 mm (T1a, b Status)
- Tumoren bis zu einer Dicke von >1- 2 mm (T2a Status)

Es liegen keine Metastasierung vor (N0 und M0 Status).

Stadium II umfasst Patienten mit

- Tumoren >1-2mm (T2b Status)
- Tumoren >2-4 mm (T3a, b Status)
- Tumoren >4mm (T4a, b Status)

Es liegen keine Metastasierungen vor (N0 und M0 Status).

Stadium III kennzeichnet sich zusätzlich zu der Tumordicke durch das Vorliegen von klinisch nicht-nachweisbaren, nachweisbaren und metastatisch befallener regionärer Lymphknoten oder sobald Satellit-/ In-transit-Metastasen vorliegen. Des Weiteren wird die Anzahl der befallenen Lymphknoten bei der Angabe des N-Status 1-3 in Betracht gezogen. Es liegen jedoch keine Fernmetastasen vor (M0 Status).

Stadium IV liegt vor sobald in Geweben und Organen jenseits des Primarius Fernmetastasen aufzufinden sind.

Für die genauere Einteilung wird auf die S3-Leitlinie verwiesen[7].

1.4 Melanom Diagnose und Therapie

Bei der Diagnose ist eine maligne Hautveränderung von einer benignen abzugrenzen. Dies gelingt vor allem durch die berüchtigte ABCDE- Regel, bei der die Asymmetrie, Begrenzung, das Colorit, der Durchmesser und die Erhabenheit beurteilt werden.

Nach sorgfältiger Begutachtung des auffälligen Nävus und entsprechender Vermutung einer ausgehenden Malignität, sollte, nach Empfehlung der Leitlinie, zur histologischen Sicherung eine akkurate Komplettexision mit kleinem Sicherheitsabstand stattfinden[7]. Zur histologischen Diagnosestellung wird mithilfe des Invasions-Levels nach Clark das Einwachsen in die verschiedenen Hautschichten bewertet und mit der Breslow-Dicke die vertikale Tumordicke bestimmt[15].

Durch die vollständige Entfernung des Nävi wird die Wahrscheinlichkeit eines Rezidives bei möglicher Malignität weitestgehend ausgeschlossen[16]. Je nach Tumordicke (nach Breslow) wird bei gleich oder größer als 1-2 mm ein Sicherheitsabstand von 1 cm gewählt und bei >2-4 mm ein Sicherheitsabstand von 2 cm bestimmt[7]. Die Entscheidung einen größeren Sicherheitsabstand zu wählen, wird mit einer verringerten Mortalitätsrate in Verbindung gesetzt[17].

Bei der Nachkontrolle mit mikroskopischen (R1-Situation) bzw. makroskopischem (R2-Situation) Anhalt für Resttumorgewebe muss nachexzidiert werden, um den Residualtumor zu entfernen und damit die R0-Situation zu erreichen[7]. Beträgt dabei die Dicke des Primärtumors um die 1,2-3,5 mm, wird nach Morton et al die zusätzliche Entfernung und Observation der Wächterlymphknoten empfohlen[18].

Ist durch operative Entfernung nicht mit einer Komplettremission zu rechnen oder ist das befallene Gebiet inoperabel, bestehen sekundäre Therapiemöglichkeiten, wie die Strahlentherapie oder auch die Chemotherapie, um die Metastasierung zu verhindern[7]. Patienten ab dem Stadium II wird eine adjuvante Interferontherapie empfohlen und Patienten ab dem Stadium III mit einer BRAF-V600 Mutation wird eine zielgerichtete Therapie empfohlen[7].

Die zielgerichtete Therapie ist eine Therapieform, die die mutierte B-RAF-Proteinkinase im MAP-Kinase-Signalweg der Tumorzellen inhibiert, die sonst aufgrund der Mutation endlos Wachstumssignale ausschüttet[19]. Fällt ein Nachweis für die BRAF Genmutation positiv aus (Mutation im Codon V600E oder V600K), kommen BRAF und MEK(MAP/Erk-Kinase) Inhibitoren, wie Vemurafenib, Dabrafenib oder Trametinib, zum Einsatz, die gezielt das unkontrollierte Tumorwachstum ausbremsen[7]. Bei Behandlung zeigen Patienten mit Vorliegen dieser Mutation eine rasche Ansprechrate auf die Medikation und eine allgemein verlängerte Überlebenszeit[20]. Nachteil der zielgerichteten Therapie mittels des Proteininhibitors ist die allmähliche Resistenz gegenüber der Medikation durch die ständige Mutation der Tumorzellen[21]. Im Gegensatz zu einer herkömmlichen Chemotherapie kann das Gesamtüberleben durch zielgerichtete Therapie jedoch verbessert werden[20].

1.4.1 Checkpoint-Inhibitoren

Patienten ab dem Stadium IIB wird eine adjuvante Medikamententherapie mit Checkpoint-Inhibitoren, wie z.B. Nivolumab, Pembrolizumab empfohlen[7,22].

Checkpoint-Inhibitoren sind die modernen Systemtherapien, die allmählich die Chemotherapeutika ablösen. Bei den sogenannten Immuncheckpoints handelt es sich um natürliche Regulationsrezeptoren, die auf körpereigenen Immunzellen vorkommen. Die Hauptaufgabe besteht darin, die T-Zellfunktionalität zu gewährleisten und die Überexpression im Sinne einer Überfunktion von den T-Zellen zu verhindern, um so z.B. auch eine Autoimmunerkrankung zu verhindern[23]. Bei den Checkpoint-Inhibitoren handelt es sich oftmals um monoklonale Antikörper, die die inhibitorischen Proteine und Liganden der T-Zellen und Krebszellen inaktivieren. Dem Immunsystem gelingt es dadurch die eigene Immunantwort gegen die nun erkennbaren Tumorzellen zu richten.

Der erste Immuncheckpoint-Inhibitor (ICI) für Melanompatienten war der monoklonale Antikörper Ipilimumab, der im Jahre 2011 auf dem Markt erschien[24]. So konnte bei einigen Patienten allein durch die Gabe von Ipilimumab das mediane Gesamtüberleben bis auf 3 Jahre verbessert werden, welche zuvor bei Patienten im Stadium IV bei 8-10 Monaten lag[25].

Ipilimumab agiert als CTLA-4 (cytotoxic-T-lymphocyte-associated-protein 4) Inhibitor. CTLA-4 ist bei der T-Zellproliferation eine Kontrollstelle, in dem es bei vermehrter Aktivierung der T-Lymphozyten die Proliferation der T-Zellen hemmt. Damit diese Kettenreaktion ausgelöst wird, muss zunächst ein T-Zellrezeptor, das ihm präsentierte Antigen über das MHC-Komplex erkennen, um daraufhin aktiviert zu werden. Um die T-Zellproliferation nach erfolgreicher Aktivierung zu ermöglichen, erfolgt über den gleichen Antigen-MHC-Komplex die Bindung eines weiteren kostimulierenden Signals durch CD80 oder CD86 an CD28[26]. Erst nach erfolgreicher Bindung findet eine Proliferation der T-Zellen statt.

Um eine überschießende Immunreaktion zu verhindern, erkennt CTLA-4 die Ausschüttung der kostimulierenden Faktoren und sorgt für die Inhibition der T-Zellproliferation. Wird dieses Protein durch Checkpoint-Inhibitoren, wie dem Ipilimumab blockiert, werden zuvor nicht rekrutierte T-Lymphozyten nun aktiviert, die vermehrt die Tumorzellen als maligne erkennen und zur Eliminierung dieser führen.

Nivolumab sowie Pembrolizumab sind anti-PD1-Antikörper (programmed death protein 1). Die Funktion von PD1 besteht darin als regulatorisches Transmembranprotein an den PD1-Liganden und PD2-Liganden zu binden. PD-L1 und PD-L2 werden durch bestimmte inflammatorische Zytokine, wie dem Interferon-γ zur Transmembranexpression angeregt[27]. Tumorzellen können, wie viele andere Körperzellen, die Expression von PD-L1 und PD-L2 fördern[24]. Bei chronischen Infektionen, aber auch einer Tumorerkrankung, wird die Anzahl an T-Zellen, B-Zellen und natürlichen Killerzellen im Körper durch das Immunsystem heraufreguliert und damit auch die Expression von PD1, welches sich auf diesen Zellen befindet[24].

Die Interaktion von PD1 mit PD-L1 und PD-L2 ist ein natürlicher Schutzmechanismus des Körpers, um einer Überreaktion des Immunsystems entgegenzuwirken, in dem PD1 durch die Interaktion mit den Liganden eine Apoptose der T-Zellen bewirkt. Durch die gesteigerte Expression von PD-L1 und PD-L2 auf Tumorzellen versucht der Krebs dem Immunsystem auszuweichen. Wird nun ein anti-PD1-Antikörper eingesetzt, wird diese natürliche Blockade des Immunsystems ausgeschaltet, sodass die T-Zellen im Stande sind die Tumorzellen zu erkennen und die Apoptose einzuleiten. Deshalb ist das Auffinden von Tumorinfiltrierenden Lymphozyten ein prognostisch günstiger Faktor bei der Bekämpfung eines malignen Melanoms[28].

In der CheckMate 238 Studie konnte ein erheblicher Vorteil in Bezug auf das rezidivfreie Überleben in den ersten 12 Monaten (Stadium IIIB und IIIC: 72,3% zu 61,6%; Stadium IV: 63% zu 57,5%) und der vorkommenden Nebenwirkungen (Grad 3 und 4: 14,4% zu 45,9%) des Medikamentes Nivolumab im Vergleich zu Ipilimumab bei fortgeschrittenen Melanompatienten festgestellt werden[29]. Aufgrund der genannten Vorteile der anti-PD1-Antikörper, empfiehlt das Leitlinienprogramm die adjuvante Therapie mit einem anti-PD1-Antikörper im Stadium III und IV.

Nivolumab in Kombinationstherapie mit Ipilimumab zeigte eine Verbesserung in der Behandlung bei Patienten mit Metastasen, aber dafür eine stärkere Nebenwirkungstendenz, wie die Ausbildung von Hepatotoxizität,

Gastrointestinaltoxizität, Pneumonitis, Endokrine Dysfunktion und Dermatitis[30,31]. Insbesondere Patienten mit asymptomatischen Hirnmetastasen wird jedoch diese Kombinationstherapie als Erstlinientherapie empfohlen, da es zu einer besseren Ansprechrate im Vergleich zu einer Nivolumab-Monotherapie kam[32].

Silași et al betrachteten rückblickend 53 Patienten im Stadium IV, die nicht adjuvant mit einer Nivolumab und Ipilimumab Kombinationstherapie von 2019 bis 2022 behandelt wurden. Bei etwa 56% der Patienten kamen dabei Fernmetastasen in Lymphknoten am häufigsten vor. Die mediane progressionsfreie Überlebenszeit nach Behandlungsstart betrug bei den Patienten 211 Tage. Die 3-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit lag dabei bei knapp 40%[33]. Des Weiteren konnte in einer anderen Studie von Eggermont et al nach Komplettresektion im Stadium III bei adjuvanter ICI-Therapie mit Ipilimumab eine 5-Jahres-rekurrenzfreie Überlebens-wahrscheinlichkeit von etwa 41% angegeben werden[34]. Bei dem Placebo lag die Überlebenswahrscheinlichkeit hingegen nur bei 30%. Die Gesamtüberlebens-wahrscheinlichkeit nach 4 Jahren betrug bei der adjuvanten Monotherapie im Stadium III knapp 70%. Diese zwei Studien werden in Kapitel 3.1 nochmals für eine Fallzahlberechnung aufgegriffen.

Es bleibt damit zu betonen, dass die Immuntherapie mittels Checkpoint-Inhibitoren eine langfristige und prognostisch zuverlässige Therapiemethode darstellt, die das Immunsystem zur Bekämpfung des Tumors nutzt. Daraus lässt sich schließen, dass mittels ICI-Therapie im Vergleich zu den herkömmlichen Therapieformen das progressionsfreie Überleben und die Gesamtüberlebenszeit bei Melanompatienten signifikant verbessert werden kann[35,36].

1.5 CMV

Das menschliche Cytomegalievirus (CMV) ist ein β-Herpesvirus, das zu einer Unterklasse an Herpesviren mit einer langsamen Replikationszeit gehört. Es

zeigt eine strikte Einhaltung seiner Wirtspezies und etabliert sich nach der Erstinfektion in eine lebenslange latente Infektion[37].

Von allen menschlichen Herpesviren betrachtet besitzt CMV das größte Genom (~235,000 bp) und hat sich im Laufe der Evolution dem menschlichen Wirt sehr spezifisch angepasst, weshalb es eine breite genetische Variabilität aufweist[38]. Es kann auch zu Mischinfektionen mit genetisch entfernteren Varianten kommen, sogenannte Superinfektionen, und mit fortgeschrittenem Alter besteht die Gefahr einer kumulativ höheren Exposition dem Virus ausgesetzt zu sein[39,40]. Demnach kommt es zu einer nachweislich steigenden Seroprävalenz im Alter[41]. Aufgrund der Heterogenität von CMV wird immer noch an einer Impfung geforscht, die effektiv gegen alle Varianten schützt[39].

Das CMV vermehrt sich insbesondere in Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen sowie Makrophagen. In der Latenzzeit vorwiegend in hämatopoetischen Stammzellen und Monozyten[42]. Es ist davon auszugehen, dass die weltweite Bevölkerung eine Seroprävalenz von 45%-100% aufweist, mit den höchsten Inzidenzen in Südamerika, Asien und Afrika und den geringsten Inzidenzen in Westeuropa und den USA[43]. In Deutschland beträgt die Seroprävalenz in etwa 55%[40].

Die starken Unterschiede zwischen den einzelnen Regionen weltweit lässt sich durch die Exposition mit dem Virus erklären, zu denen auch Faktoren wie soziale Verhältnisse, Alter, Hygienebedingungen, Sexualverhalten und Umgang mit Kleinkindern zählen[42]. Insbesondere Kinder nach postnataler Infektion oder mit kongenitaler Ansteckung zeigen die größte Viruslastmenge auf, die bis in das 8.Lebensjahr reichen kann[42].

Erfolgt während der Schwangerschaft eine Infektion, kann es in den ersten drei Monaten der Schwangerschaft den Fötus dermaßen schädigen, dass das Kind später Anomalien aufzeigt zu denen Gehörschäden, Wachstumsstörungen, mentale Retardierung sowie Mikrozephalie gehören[42]. Zudem weisen diese Kinder mit kongenitaler CMV ein allgemein erhöhtes Risiko für Säuglingssterblichkeit auf und haben aufgrund der Beeinträchtigungen lebenslang mit den Behinderungen zu kämpfen[44].

Die Infektion mit dem CMV verläuft für die Mehrheit der Bevölkerung symptomlos, da ein gesundes Immunsystem die Ausbreitung der Infektion in Grenzen hält. Bei immunsupprimierten Menschen aufgrund von erworbenen Erkrankungen, Therapien oder Organtransplantationen kann das Virus aufgrund des heruntergekurbelten Abwehrmechanismus schwere Schäden anrichten, die von Pneumonie, Hepatitis, Nephritis, Ösophagitis, Colitis, Myelitis bis hin zum ,,End-organ disease“ führen kann[45,46]. Es kann auch zur Ausbildung von Autoimmunerkrankungen, wie dem Lupus Erythematodes, Systemischer Sklerose, rheumatischer Arthritis und dem Sjögren Syndrom kommen[47]. Selbst bei Menschen mit einer regelrechten Immunantwort können nach Infektion mit CMV vermehrt kardiovaskuläre Erkrankungen und Atherosklerose durch geschädigte Gefäßwände festgestellt werden[48].

Die Infektion verbreitet sich, wie auch bei anderen Virusarten, durch Körperflüssigkeitenaustausch. Aber auch das Ernähren eines Säuglings mit Muttermilch birgt gewisse Ansteckungsrisiken sowie auch Organ-transplantationen[42].

Nach Übertragung geht das Virus nach 4-6 Wochen Erstinfektion in eine latente Phase über, in der es immer wieder lebenslang zu erneuten Reaktivierungs-phasen kommen kann.

1.6 CMV Immunsystem Interaktion

Das Immunsystem bildet eine spezielle Abwehr, um die lebenslange Infektion zu kontrollieren. Deshalb sind allein bis zu 10% aller T-Zellen (CD4 und CD8) im Körper bei Seropositiven CMV spezifisch ausgelegt[49]. Welche Auswirkungen diese Spezialisierung auf das Immunsystem hat, haben verschiedene Studien ermittelt.

So konnte in der Studie von Brodin et al anhand von 210 Zwillingen ein signifikanter Unterschied in den Immunzellen, wie den CD8 und γδ-T-Zellen, festgestellt werden.119 von 204 (58%) der ausgelegten Parametern waren durch

CMV betroffen, die zu Differenzen in den Immunprofilen von seropositiven Zwillingen führten, die bei seronegativen Zwillingspaaren weniger unterschiedlich waren[50]. Anhand dieser Studie konnte der massive Einfluss von nicht erblichen Faktoren, zu denen auch infektiöse Erkrankungen, wie CMV zählen, auf die Variationsmöglichkeiten und Adaptionsverhältnisse des Immunsystems aufgezeigt werden.

In der Studie von Chidrawar et al konnte nachgewiesen werden, wie sich ein positiver CMV-Status auf die lymphoiden Zellen auswirkt. So kommt es zu einem 60% Zuwachs an CD8+ Zellen, zu einer gedoppelten Expression an CD45RA, zu einer Steigerung der B-Zellen mit gleichzeitiger Unterdrückung der CD5+ Zellen und zu einem Absinken der naiven CD4+ T-Zellen[51].

Eine gleichzeitige Infektion mit dem EBV bei vorheriger CMV-Infektion unterdrückt die Immunitätsantwort auf die Bekämpfung der CMV-Infektion, welches ein Hinweis darauf geben könnte, dass mit dem Alter verschiedene Infektionen durch das CMV-spezialisierte-Immunsystem reduzierter bekämpft werden und damit das Immunsystem vulnerabler ist[52].

Die gesteigerte Zunahme an differenzierten CD8+ T-Zellen bei CMV seropositiven Individuen, die zur Immunoseneszenz führt, wird in Verbindung mit einer schnelleren Zellalterung, erhöhter Entzündungsgefahr und allgemein gesteigerten Sterblichkeit im Alter gesetzt. Es verweist auf ein sogenanntes ,,immune risk profile“[53,54].

Trotz der negativen Aspekte, die eine Infektion mit CMV mit einherbringen kann, konnte in der Studie von Furman et al ein positiver Aspekt bei jungen, gesunden CMV positiven Individuen gegenüber Influenzaimpfungen festgestellt werden. Es zeigte sich, dass die gesteigerte Expression an CD8+ Zellen und IFN-γ eine verbesserte Antikörperantwort hervorruft[55].

Dieser Vorteil bezieht sich aber nur auf die gesunde, junge Bevölkerung, denn bei den älteren Altersgruppen wurde dieser Effekt nicht nachgewiesen, eher dass es zu einer verschlechterten humoralen Immunantwort kommt[56,57]. Die immunsuprimierende Wirkung durch CMV gegen andere Viren bzw. Impfungen,

speziell bei älteren Altersgruppen, lässt sich anhand von verschiedenen Studien beweisen. So konnte nachgewiesen werden, dass es besonders in der älteren Patientengruppe bei einer Influenzaimpfung zu einem geringeren Anstieg des immunstimmulierenden IFN-γ kommt, aber zu einem höheren Anstieg an Entzündungsmediatoren, wie dem TNF-α und IL6 und zu einem gleichzeitigen Ausfall der Expression an CD4+ Zellen (mit Verlust der Expression an CD28 und CD27). Dieser immunsuprimierende Effekt zeigte sich auch bei Befall anderer Viren, wie EBV und dem Varicella Zoster Virus, da die T-Zellen bei CMV-Seropositiven spät differenziert sind und damit ein Verlust auf die Reaktion neuer Antigene einhergeht[52,53,56,58–61].

Zudem konnte in der Studie von Nielsen et al bewiesen werden, dass auch die Natürlichen Killerzellen eine verringerte Wirkung bzw. Zytotoxizität bei Seropositiven gegenüber Seronegativen gegen das Influenzavirus zeigen, welches den Abfall an IFN-γ erklärt[60].

Kaczorowski et al haben bei dem Vergleich der Veränderungen in den Immuntypen festgestellt, dass CMV-seropositive Individuen einen heterogeneren Immuntyp aufweisen und im Vergleich mit deren Altersgruppen einem älteren Immuntyp zugeordnet werden konnten[62].

In der Leiden 85+ Studie konnte jedoch nachgewiesen werden, dass ältere CMV+ Individuen mit weniger naiven CD8+ T-Zellen, hervorgerufen durch eine CMV-Infektion, eine längere Überlebenszeit aufzeigten[63,64].

1.6.1 CMV und Tumorprogression

Wie bereits bekannt weist CMV vielfältige Mechanismen auf, um dem Immunsystem auszuweichen und als latente Infektion in seinem Wirt zu überleben.

So hemmt das Virus die Natürlichen Killerzellen seines Wirtes über verschiedene Genabschnitte, wie dem UL18, die infizierten Zellen zu erkennen. Dieses Genprodukt ähnelt dem humanen MHC I Komplex und wird auf den infizierten

Zellen präsentiert. Die CD8 Zellrezeptoren binden an diese viralen Proteine an anstelle des MHC I[65]. Das CMV Gen UL16 bindet des Weiteren an die stimulierenden Rezeptorliganden ULBP und MICB und hemmt damit die Natürlichen Killerzellen[66]. Weitere diskutierte Genabschnitte und ihre resultierenden Proteine, die die Aktivität der immunologischen cytotoxischen T-Zellen und Natürlichen Killerzellen hemmen sind UL140, US6,US11,US3 und US2[67].

In einigen Untersuchungen wurde das Auffinden von CMV-DNA/- und Proteinen vermehrt in Tumorgewebe von Brustkrebspatienten, Gehirntumoren, Ovarialkarzinomen, Darmkarzinomen, Leberkarzinomen und Prostatakarzinomen aufgezeigt[68–70].

Ciantl et al führten den Begriff ,,virale Onkomodulation“ ein, um zu zeigen, dass das Humane Cytomegalievirus zu einer Tumorprogression durch zelluläre Dysregulation und virale Mutationen führen, welche für ein längeres Zellüberleben der infizierten Zellen sorgen, ohne dabei vom Immunsystem erkannt zu werden. Es werden optimale Bedingungen für die onkologischen Prozesse in dem Wirt geschaffen, die für das Tumorwachstum entscheidend sind[67]. Je mehr der Wirt durch den Tumor überlastet wird, desto mehr kann sich das Virus verbreiten[71].

Auffällig ist, dass immunkompetente Patienten mit einem Auffinden von CMV in Tumorgeweben keinen Befall in gesundem Gewebe aufzeigen. Dies würde dafür sprechen, dass die tumorösen Zellen selbst eine ideale Mikroumgebung bieten, in der die vermehrt replizierenden Viren für eine Inflammation und Tumorprogression führen[67].

Den Erkenntnissen nach könnte das Auffinden vom CMV in Tumorgeweben Ansätze bieten, um die Immuntherapie weiter zu optimieren und das Ansprechen auf die ICI-Therapie zu verbessern[72,73].

Es sollte somit erwähnt werden, dass bisher immer noch nicht genau gesagt werden kann, ob und inwiefern CMV-infizierte Patienten im Allgemeinen beeinträchtigt sind. Bisherige Studien konnten anhand von kleinen

Patientengruppen verschiedenste Ergebnisse aufzeigen. Eine Mehrheit der Studien zeigt jedoch eine negative Auswirkung von Seropositivität auf das Immunsystem. Entsprechend dem Alter und dem Gesundheitszustand verändert sich das Immunsystem definitiv nach einer Infektion mit diesem Pathogen. Die indirekten Konsequenzen nach einer CMV-Infektion und der folgende Immunsystem-Shift werden weiterhin erforscht.

Da es wenig Erkenntnisse gibt, inwiefern die Lebensdauer von Melanompatienten unter ICI-Therapie durch den CMV-Reaktivitätsstatus beeinflusst wird, richtet sich ein Großteil der statischen Analyse in dieser Arbeit auf die Erhebung dieser Daten.

1.7 Fragestellungen

Aus dem Hintergrund der beschriebenen Einleitung werden in dieser Dissertation die folgenden Fragestellungen und Hypothesen analysiert:

1. In welchem Ausmaß muss die Patientenkohorte gewählt werden, um signifikante Überlebensunterschiede in den CMV+ und CMV- Patientengruppen festzustellen?

2.) In der Literatur wird der negative Einfluss eines positiven Titers auf das Überleben beschrieben. Haben seropositive Patienten daher ein kürzeres

- progressionsfreies Intervall
- Gesamtüberleben

im Gegensatz zu seronegativen Patienten?

3.) Zahlreiche Studien konnten den Einfluss der Therapieart mit dem Überleben korrelieren. Kann in dieser Patientenkohorte auch die ICI-Therapiewahl Einfluss auf das

- progressionsfreie Intervall

- Gesamtüberleben

der CMV+ und CMV- Melanompatienten haben?

4.) Welche Faktoren sind besonders mit einer höheren Sterblichkeit in Bezug auf das Gesamtüberleben dieser Patienten assoziiert?

5.) Ist in dieser Patientenkohorte auch ein Anstieg der Seroprävalenz mit fortschreitendem Alter erkennbar?

6.) Zeigen Patienten mit einem reaktiven CMV-Status aufgrund der resultierenden optimalen Mikroumgebung für den Tumorprogress ein größeres Tumorausmaß auf im Vergleich zu seronegativen Patienten?

2.) Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Um das Patientenkollektiv zu sammeln, wurde in der Apotheke angefragt, welche Patienten vom Jahre 2018 bis 2021 eine ICI-Therapie bekommen hatten. Aus diesem Patientenregister wurde geschaut, ob noch verbliebenes Serum aus Rückstellproben von der S100 Bestimmung zu nutzen war. S100 ist ein Melanom Tumormarker und wird regelmäßig bei Ambulanzkontrollen ermittelt. Diese Seren wurden für die CMV-Serologiebestimmung genutzt.

Patienten mit einer Datierung von weniger als 6 Wochen wurden ausgeschlossen, da das Follow-Up nicht möglich war. Das progressionsfreie Intervall ist als Startpunkt der Behandlung bis zum Fortschreiten der Erkrankung zu verstehen. Das Gesamtüberleben definiert sich von Diagnosetag bis zum letzten Follow-Up.

2.2 Fallzahlberechnung

Jede Studie bedarf einer ausreichend hohen Anzahl an Patienten, um Effekte hypothetischer Fragestellungen als signifikant ermitteln zu können. Mittels der Fallzahlberechnung nach Machin et al, ersichtlich in Formel (1),wird in dieser Arbeit unter der Annahme eines Reaktivitätsverhältnisses in Deutschland von 55% CMV positiver Patienten zu 45% CMV negativer Patienten, ein α-Fehler (=Verwerfen der Nullhypothese, obwohl diese der Echtheit entspricht) von 0,05 und ein β-Fehler (= Annahme der Nullhypothese, obwohl diese der Falschheit entspricht) von 0,2 für die benötigte Patientenkohorte verwendet[74].

(1)

$$HR_{Plan} = \frac{\log(\pi_T)}{\log(\pi_S)}$$

$$E_F = \frac{1}{\varphi}\left(\frac{1+\varphi\, HR_{Plan}}{1-HR_{Plan}}\right)^2 \left(z_{1-\frac{\alpha}{2}} + z_{1-\beta}\right)^2$$

$$\Psi_{Plan} = \frac{(1-\pi_S) + \varphi(1-\pi_T)}{1+\varphi}$$

$$N = \frac{E}{\Psi_{Plan}}$$

2.3 CMV-Serologie

Die CMV-Serologie wurde beim Labor Dr. Risch mit den Assays von COBAS 09118543190 (Elecsys CMV IgG) bestimmt. Der Grenztiter für Positivität lag bei ≥ 1,0 U/ml.

2.4 Erhebung

Die Erhebung der Patientendaten erfolgte aus den Patientenakten des internen SAP-Systems des Uniklinikums Tübingen. Diese Daten wurden in eine Excel Tabelle mit pseudonymisierten Patientennummern eingetragen. Die Daten sind im klinikinternen Q-Laufwerk zugangsgeschützt gespeichert. Die statistische Auswertung fand über die SAS Software JMP (Version 17) statt.

2.5 Statistik

Um die aufgelisteten Hypothesen zu überprüfen, erfolgt der Vergleich zwischen kategorialen Variablen mittels Chi²-Test. Die Überlebensrate wird anhand der

Kaplan-Meier-Kurve veranschaulicht. Das mediane Follow-Up wird über die reverse Kaplan-Meier-Kurve visualisiert. Um die Überlebenskurven miteinander zu vergleichen, erfolgt die Auswertung über den Log-Rank-Test. Der Einfluss von verschiedenen Variablen auf die Überlebenszeit wird über die Cox-Regressionsanalyse überprüft.

2.6 Ethik

Der Durchführung der Studie wurde von der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität mit der Projekt-Nummer 303/2022BO1 zugestimmt.

3.) Ergebnisse

3.1 Fallzahl

Um die adäquate Stichprobengröße zur Feststellung von Überlebens-unterschieden zu ermitteln, wird die Fallzahlberechnung für einen Log-Rank-Test durchgeführt. So wurde unter der Annahme eines Verhältnisses von 55% CMV positiver Patienten zu 45% CMV negativer Patienten die Fallzahlberechnung vorgenommen, die in Tabelle 1 ersichtlich ist:

Tabelle 1 Ergebnisse Fallzahlberechnung für einen Log-Rank-Test mit unterschiedlichen Proportionen der Überlebenswahrscheinlichkeiten in der CMV positiven und CMV negativen Gruppe

	Proportionen in der CMV negativen Gruppe								
Proportionen in der CMV positiven Gruppe	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0,1		306	106	61	42	33	27	23	21
0,2	288		520	157	81	53	38	30	25
0,3	96	498		675	189	93	57	40	31
0,4	53	144	650		764	204	96	57	39
0,5	36	73	175	736		783	201	91	53
0,6	27	46	84	189	754		733	180	78
0,7	22	33	50	86	185	702		614	142
0,8	19	25	34	50	81	164	582		427
0,9	17	21	26	33	45	68	126	395	

Unter der Annahme einen Überlebensunterschied von mindestens 20 Prozentpunkten jeweils im Stadium III bei adjuvanter Therapie und im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapiebehandlung aufzeigen zu wollen, wird anhand von Daten bereits stattgefundener Studien, die in Kapitel 1.4.1 erläutert wurden, die Überlebenswahrscheinlichkeit genutzt, um die Stichprobenanzahl für diese Arbeit zu ermitteln.

Eggermont et al beobachteten eine 4-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit von 70% bei adjuvanter Therapie im Stadium III. Unter der Annahme dieser 70% Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit, werden 10 Prozentpunkte auf- und abgerechnet. Es ergibt sich eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 60% bei den CMV+ und 80% bei den CMV-. Um somit den signifikanten Überlebensunterschied von 20 Prozentpunkten nachzuweisen, benötigt man nach dieser Fallzahlberechnung eine Stichprobengröße von 180 Patienten.

Bei nicht adjuvanter Therapie im Stadium IV zeigte sich in der Studie von Silași et al eine 3-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit von knapp 40%. Um unter der Annahme dieser 40% Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit einen signifikanten Überlebensunterschied von 20 Prozentpunkten nachzuweisen, werden 10 Prozentpunkte auf- und abgerechnet. Es ergibt sich eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 30% bei den CMV+ und 50% bei den CMV-. Die benötigte Stichprobenanzahl würde sich auf 189 Patienten belaufen.

3.2 Patientencharakteristika

Alter

In dem betrachteten Patientenkollektiv von insgesamt 471 Patienten betrug das mediane Alter 63 Jahre. Der älteste Patient war 91 Jahre und der jüngste 19 Jahre. Die Patienten im Alter von 55-60 Jahren bildeten mit N=60 (13%) die größte Gruppe, knapp gefolgt von den Altersintervallen 50-55, 60-65, 75-80 und 80-85 Jahren mit je 12%. Siehe Abbildung 1:

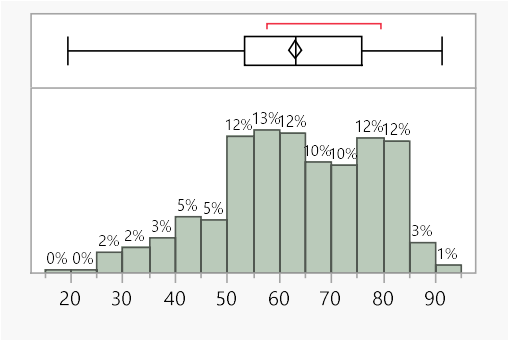


Abbildung 1 Altersverteilung

Geschlecht

Die Geschlechteraufteilung beträgt bei den Männern 55% (N=258) und bei den Frauen 45% (N=213).

Subtyp

Die größte Gruppe der vorkommenden Subtypen bildete das superfiziell spreitende Melanom (SSM) mit 39% gefolgt von dem nodulärem Melanom (NM) mit 31%. Bei 109 Patienten ist die Einordnung nicht möglich gewesen. Die restliche Verteilung ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tumordicke

Die mediane Tumordicke betrug 2,6 mm. Die größte Tumordicke lag bei 28 mm und die kleinste bei 0,1 mm. Bei 100 Patienten erfolgte keine Dokumentation. Abbildung 2 zeigt die Verteilung der Tumordicken:

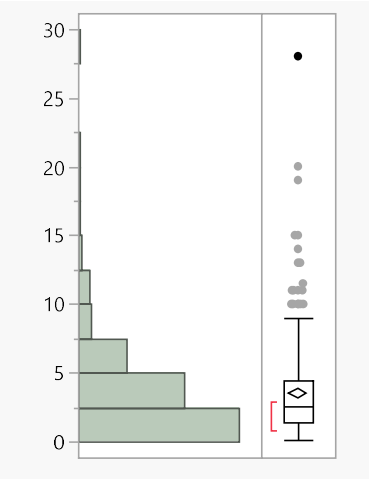


Abbildung 2 Verteilung Tumordicke

Ulzeration

150 (44%) von 342 Patienten wiesen eine Ulzeration auf. Die restlichen 192 Patienten (56%) hatten keine Ulzerationen. Bei 129 Patienten erfolgte keine Dokumentation.

Lokalisation

Mit 35% (N=149) kam es größtenteils zu einer Manifestation des Primarius im Bereich des Rumpfes. Gefolgt von den unteren Extremitäten mit 25% (N=108) und des Kopf- und Halsbereiches mit 17% (N=73%). Bei 44 Patienten wurden keine Daten vorgefunden.

TNM-Klassifikation

Bei 45% der Patienten lag ein N1 Status vor. Bei 21% ein N3 Status, bei 17% ein N2 Status gefolgt von 16% mit einem N0 Status. Bei 51% lag ein M0 Status vor, bei 49% ein M1 Status. Bei einem Patienten wurde kein Stadium angegeben, da bei diesem Patienten aufgrund von einer zuvor erfolgten Studie einer BRAF-Therapie keine exakte Gradeinteilung erfolgen konnte.

Stadium

Es wurden nur die Stadien III und IV ermittelt. Stadium III kam mit einer Häufigkeit von N=241 am meisten vor. Stadium IV wurde mit N=229 registriert. Bei einem

Patienten wurde kein Stadium angegeben, da bei diesem Patienten aufgrund von einer zuvor erfolgten Studie einer BRAF-Therapie keine exakte Gradeinteilung erfolgen konnte.

ICI-Therapieart

Von den insgesamt 471 Patienten bekamen 67% eine anti-PD-1 Monotherapie. 30% eine Kombinationstherapie mit anti-CTLA-4 und anti-PD-1 und die restlichen 3% eine Monotherapie mit anti-CTLA-4.

Vorherige BRAF-Therapie

91% von 469 Patienten erhielten vor ICI-Therapiebeginn keine zielgerichtete BRAF-Therapie. Lediglich 9% bekamen eine.

Adjuvante ICI-Therapie

Bei der Betrachtung, wie viele Patienten zusätzlich zur Primärtherapie der Exzision des Primarius eine adjuvante ICI-Therapie bekommen haben, belaufen sich die Zahlen mit N=253. 46% (N=218) wurden nicht adjuvant therapiert.

Erstlinientherapie

367 Patienten bekamen die ICI-Therapie als Erstlinientherapie. 104 Patienten bekamen sie als Zweitlinientherapie.

Ansprechen auf Therapie

Bei 24% der Patienten kam es zu einem kompletten Ansprechen auf die ICI-Therapie (CR). Bei 20% kam es zu einem partiellen Ansprechen (PR). Weitere 20% zeigten einen stabilen Verlauf (SD). Rund 36% der Patienten hatten einen progressiven Verlauf (PD) trotz Therapie. Die restlichen 254 Patienten wurden adjuvant therapiert.

CMV-Reaktivität

Insgesamt waren 53% des Patientenkollektivs CMV-Seropositiv mit Aufzeigen einer Reaktivität. Bei den restlichen 47% wurde keine Seropositivität festgestellt.

Medianes Follow-Up Gesamtüberleben

Die mediane Nachverfolgungszeit im Gesamtüberleben lag bei den reaktiven Patienten bei 4,91 Jahren (95% KI: 5,03-3,90). Bei den nicht reaktiven Patienten betrug das mediane Follow-Up 4,86 Jahre (95% KI: 5,10-4,01). Siehe Abbildung 3:

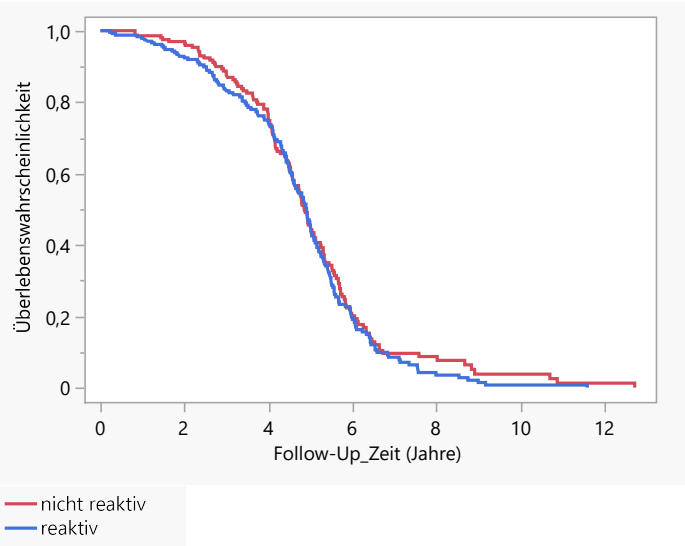


Abbildung 3 Follow-Up nach reverse Kaplan-Meier-Kurve

Gesamtüberleben zensiert

Rund 35% der Patienten wurden auf Grund des Überlebens des Beobachtungszeitraumes zensiert. Bei den restlichen 65% erfolgte keine Zensierung.

Progressionsfreies Intervall zensiert

Bei 36% (N=170) trat ein Progress im Beobachtungszeitraum auf. 301 Patienten wurden aufgrund von fehlendem Progress zensiert.

Tabelle 2 Patientencharakteristika

			Reaktivität			
			reaktiv		nicht reaktiv	
Geschlecht	**N**	**% von Gesamt**	**N**	**Zeile %**	**N**	**Zeile %**
männlich	258	54,78%	124	48,06%	134	51,94%
weiblich	213	45,22%	125	58,69%	88	41,31%
Subtypen						
SSM	141	38,95%	68	48,23%	73	51,77%
NM	111	30,66%	57	51,35%	54	48,65%
ALM	35	9,67%	21	60,00%	14	40,00%
Uveal	34	9,39%	18	52,94%	16	47,06%
LMM	24	6,63%	13	54,17%	11	45,83%
Mukosal	12	3,31%	7	58,33%	5	41,67%
Nävus-assoziiert	5	1,38%	1	20,00%	4	80,00%
Ulzeration						
nein	192	56,14%	94	48,96%	98	51,04%
ja	150	43,86%	85	56,67%	65	43,33%
Lokalisation						
Rumpf	149	34,89%	73	48,99%	76	51,01%
Untere Extremität	108	25,29%	63	58,33%	45	41,67%
Kopf und Hals	73	17,10%	37	50,68%	36	49,32%
Obere Extremität	51	11,94%	28	54,90%	23	45,10%
Aderhaut	34	7,96%	18	52,94%	16	47,06%
sonstige Lokalisationen	12	2,81%	7	58,33%	5	41,67%
N-Status						
0	105	22,34%	56	53,33%	49	46,67%
1	196	41,70%	108	55,10%	88	44,90%
2	75	15,96%	41	54,67%	34	45,33%
3	94	20,00%	43	45,74%	51	54,26%
M-Status						
0	240	51,06%	130	54,17%	110	45,83%
1	230	48,72%	118	51,03%	112	48,64%
Stadium						
III	241	51,28%	131	54,36%	110	45,64%
IV	229	48,72%	117	51,09%	112	48,91%
Therapie						
aPD-1	316	67,09%	176	55,70%	140	44,30%
aCTLA-4 + aPD-1	143	30,36%	68	47,55%	75	52,45%
aCTLA-4	12	2,55%	5	41,67%	7	58,33%
Vorher_BRAF						
nein	428	91,26%	231	53,97%	197	46,03%
ja	41	8,74%	17	41,46%	24	58,54%
Adjuvant						
ja	253	53,72%	137	54,15%	116	45,85%
nein	218	46,28%	112	51,38%	106	48,62%

Erstlinientherapie						
ja	367	77,92%	199	54,22%	168	45,78%
nein	104	22,08%	50	48,08%	54	51,92%
Ansprechen_auf_Therapie						
PD	79	36,41%	36	45,57%	43	54,43%
CR	51	23,50%	30	58,82%	21	41,18%
PR	44	20,28%	20	45,45%	24	54,55%
SD	43	19,82%	25	58,14%	18	41,86%
Gesamtüberleben_zensiert						
falsch	304	64,54%	163	53,62%	141	46,38%
richtig	167	35,46%	86	51,50%	81	48,50%
Progressionsfrei_zensiert						
richtig	301	63,91%	152	50,50%	149	49,50%
falsch	170	36,09%	97	57,06%	73	42,94%

3.3 Auswirkung der Reaktivität auf das Überleben

3.3.1. Progressionsfreies Intervall

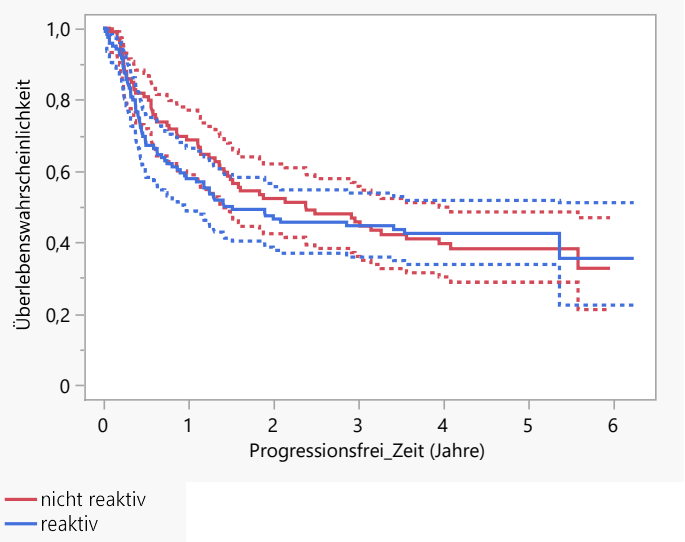
Dieser Abschnitt beschäftigt sich mit der Hypothese, ob Patienten mit einem positiven Titer ein kürzeres progressionsfreies Überlebensintervall aufzeigen. Dazu werden die Patienten, gegliedert nach Stadium und adjuvanter Therapie, analysiert. Für das Stadium III bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie und Stadium IV bei erfolgter adjuvanter Therapie wird aufgrund der kleinen Patientenmenge auf die statistische Überlebensanalyse verzichtet.

Stadium III (adjuvant)

Das progressionsfreie Intervall zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen reaktiven Patienten und nicht reaktiven Patienten im Stadium III bei adjuvanter Therapie ($p>0,05$).

Eingeschlossen wurden 120 reaktive Patienten und 99 nicht reaktive Patienten. Das mediane progressionsfreie Intervall bei reaktiven Patienten betrug in etwa

1,52 Jahre (95% Konfidenzintervall bei einer minimalen Beobachtungszeit von 0,95 Jahren und einer maximalem Beobachtungszeit von 5,36 Jahren).
Bei nicht reaktiven Patienten lag sie leicht erhöht bei einem medianen Intervall von etwa 2,39 Jahren. (95% Konfidenzintervall: von 1,42 Jahren bis 3,95 Jahren).
Abbildung 4 bildet die Überlebenskurven ab:



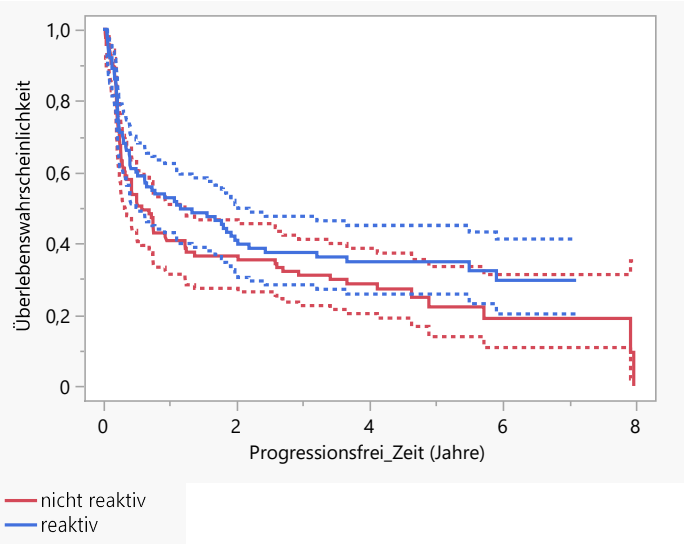
Test	Chi²	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi²
Log-Rang	0,0906	1	0,7634

Abbildung 4 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier-Kurve für das Stadium III bei erfolgter adjuvanter Therapie

Stadium IV (nicht adjuvant)

Auch im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapie konnte kein signifikanter Unterschied im progressionsfreien Intervall zwischen den beiden Patientengruppe festgestellt werden (p>0,05).
Eingeschlossen wurden 101 reaktive Patienten und 95 nicht reaktive Patienten.
Das mediane Intervall war jedoch bei den reaktiven Patienten leicht erhöht mit 1,16 Jahren (95% Konfidenzintervall: von 0,50 Jahren bis 2,02 Jahren) im

Vergleich zu den nicht reaktiven Patienten mit einer medianen Zeit von 0,58 Jahren (95% Konfidenzintervall: von 0,32 Jahren bis 1,23 Jahren). Abbildung 5 zeigt die Überlebenskurven:



Test	Chi²	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi²
Log-Rang	1,8374	1	0,1753

Abbildung 5 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier Kurve im Stadium IV bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie

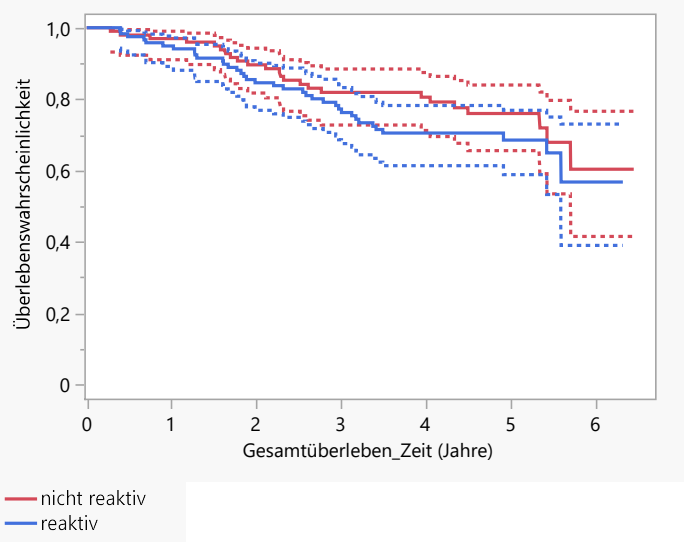
3.3.2 Gesamtüberleben

Im Folgenden wird die Gesamtüberlebenszeit der Patientengruppen in den Stadien III und IV ermittelt. Für das Stadium III bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie und Stadium IV bei erfolgter adjuvanter Therapie wird aufgrund der kleinen Patientenmenge auf die statistische Überlebensanalyse verzichtet.

Stadium III (adjuvant)

Das Gesamtüberleben im Stadium III bei adjuvanter Therapie ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen reaktiven und nicht reaktiven Patienten (p>0,05).

In der reaktiven Patientengruppe befanden sich 120 Patienten gegenübergestellt zu den 99 nicht reaktiven Patienten. Es konnte für beide Gruppen keine mediane Gesamtüberlebenszeit ermittelt werden. Abbildung 6 bildet die Überlebenskurven ab:



Test	Chi²	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi²
Log-Rang	1,1363	1	0,2864

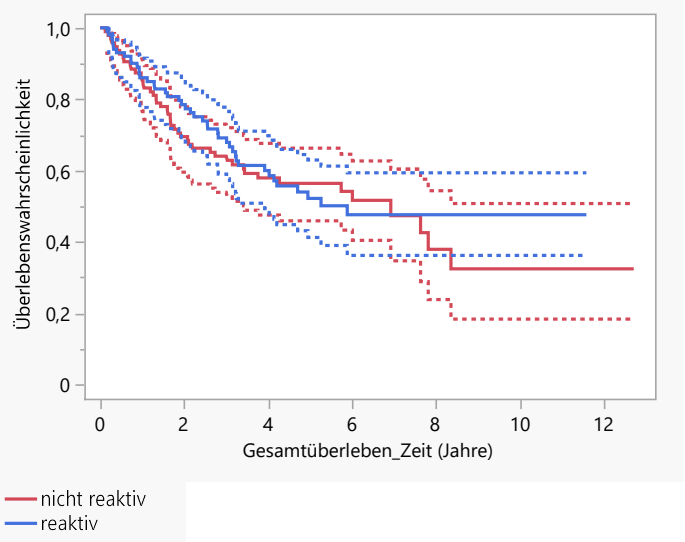
Abbildung 6 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurve im Stadium III bei adjuvanter Therapie

Stadium IV (nicht adjuvant)

Im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapie zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Gesamtüberlebenszeit zwischen den beiden Patientengruppen (p>0,05).

Eingeschlossen wurden 101 reaktive Patienten und 95 nicht reaktive Patienten. Die mediane Gesamtüberlebenszeit betrug bei den reaktiven Patienten 5,88 Jahre (95% Konfidenzintervall bei einer minimalen Beobachtungszeit von 3,91 Jahren). Die nicht reaktive Patientengruppe zeigte ein leicht erhöhtes

Gesamtüberleben mit 6,92 Jahren (95% Konfidenzintervall bei minimaler Beobachtungszeit von 3,41 Jahren und einer maximalen Beobachtungszeit von 8,35 Jahren). Abbildung 7 zeigt die Überlebenskurven:



Test	Chi²	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi²
Log-Rang	0,0992	1	0,7528

Abbildung 7 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurve im Stadium IV bei nicht erfolgter adjuvanter Therapie

3.4 Auswirkung der Therapieart auf das Überleben

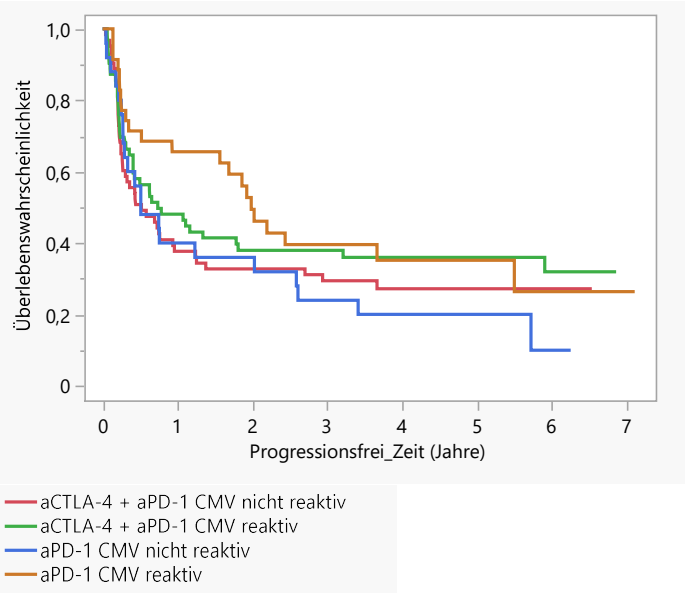
Als nächstes wird geprüft, ob die Therapiewahl Einfluss auf das Überleben hat, wie es in der Literatur schon nachgewiesen wurde. Es wird ausschließlich die Auswirkung eines anti-PD1-Antikörpers, CTLA-4 Inhibitors und die ICI-Kombinationstherapie auf das progressionsfreie Intervall und das Gesamtüberleben bei CMV+ und CMV- Patienten im Stadium IV ermittelt.

Der Vergleich zwischen den Stadien unter den Patienten, die nur eine anti-CTLA-4 Therapie bekommen haben, wird aufgrund der kleinen Patientengruppen

ausgelassen. In den Abbildungen wird auf die Darstellung der 95% Konfidenzintervalle auf Grund der Übersichtlichkeit verzichtet.

3.4.1 Progressionsfreies Intervall

Im Stadium IV bei aPD-1-Monotherapie und aCTLA-4 + aPD-1 Kombinationstherapie zeigte sich im progressionsfreien Intervall kein signifikanter Unterschied ($p>0,05$).
Eingeschlossen wurden 25 nicht reaktive Patienten, die mit aPD-1 behandelt wurden und 63 nicht reaktive Patienten, die mit aCTLA-4 + aPD-1 behandelt wurden. Von der reaktiven Gruppe bekamen 35 Patienten eine Monotherapie mit aPD-1 und 63 Patienten die Kombinationstherapie mit aCTLA-4 + aPD-1.
Das größte mediane progressionsfreie Intervall mit 1,98 Jahren zeigte sich in der reaktiven Gruppe mit der Monotherapiebehandlung (95% Konfidenzintervall: von 0,93 Jahren bis 5,49 Jahren).
Die reaktive Gruppe mit der Kombinationstherapie folgte mit einem medianen progressionsfreien Intervall von 0,73 Jahren (95% Konfidenzintervall: von 0,40 Jahren bis 1,81 Jahren).
Bei der nicht reaktiven Gruppe mit der Kombinationstherapie betrug das mediane Überleben 0,52 Jahre (95% Konfidenzintervall: von 0,27 Jahren bis 0,96 Jahren).
Die nicht reaktive Gruppe mit der Monotherapiebehandlung lag knapp mit 0,51 Jahren dahinter (95% Konfidenzintervall: von 0,27 Jahren bis 2,59 Jahren).
Abbildung 8 spiegelt die Überlebenskurven ab:



Test	Chi^2	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi^2
Log-Rang	3,4862	3	0,3226

Abbildung 8 Progressionsfreies Intervall nach Kaplan-Meier-Kurven im Stadium IV unter Mono- und Kombinationstherapie

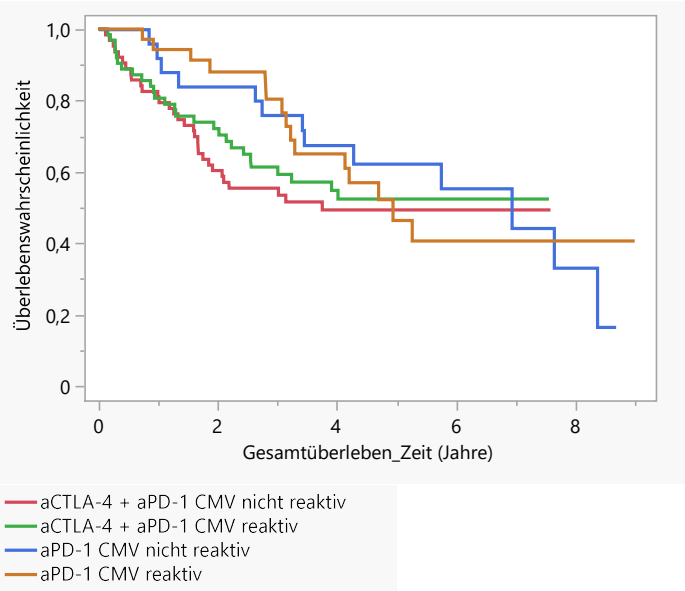
3.4.2 Gesamtüberleben

Auch im Stadium IV bei aPD-1-Monotherapie und aCTLA-4 + aPD-1 Kombinationstherapie zeigte sich im Gesamtüberleben kein signifikanter Unterschied (p>0,05).

Eingeschlossen wurden 25 nicht reaktive Patienten, die mit aPD-1 behandelt wurden und 63 nicht reaktive Patienten, die mit aCTLA-4 + aPD-1 behandelt wurden. Von der reaktiven Gruppe bekamen 35 Patienten eine Monotherapie mit aPD-1 und 63 Patienten die Kombinationstherapie mit aCTLA-4 + aPD-1.

Das längste mediane Gesamtüberleben zeigte die nicht reaktive Gruppe mit der Monotherapiebehandlung mit 6,92 Jahren (95% Konfidenzintervall: von 3,41 Jahren bis 8,35 Jahren).

Die mediane Gesamtüberlebenszeit bei der reaktiven Gruppe mit der Monotherapiebehandlung betrug 4,94 Jahre (95% Konfidenzintervall bei minimaler Beobachtungszeit von 3,22 Jahren).
Die Kombinationstherapie in der nicht reaktiven Gruppe lag mit einer medianen Gesamtüberlebenszeit von 3,76 Jahren dahinter (95% Konfidenzintervall bei minimaler Beobachtungszeit von 1,85 Jahren).
Für die reaktive Gruppe mit der Kombinationstherapiebehandlung konnte keine mediane Gesamtüberlebenszeit ermittelt werden (95% Konfidenzintervall bei minimaler Beobachtungszeit von 2,55 Jahren). Abbildung 9 zeigt die Überlebenskurven:



Test	Chi²	Freiheitsgrade	Wahrsch. > Chi²
Log-Rang	2,2634	3	0,5196

Abbildung 9 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier-Kurven im Stadium IV unter Mono- und Kombinationstherapie

3.5 Cox-Regressionsanalyse im Gesamtüberleben

Um den unabhängigen Einfluss von den Variablen Geschlecht, Stadium, Ulzerationsstatus, vorherige BRAF-Therapie und Reaktivität auf die Überlebenszeit zu analysieren, wird die multivariate Cox-Regressionsanalyse für die bisher analysierten Patientengruppen angewendet.

Mit den Ausfallratenverhältnissen, auch Hazard Ratios genannt, wird das Risiko für das Ereignis Tod in der Behandlungsgruppe zu der Kontrollgruppe verglichen. Dabei bedeutet ein HR=1, dass es kein Unterschied zwischen den verglichenen Gruppen gibt. Ein HR<1 bedeutet, dass es für die beobachtete Gruppe ein geringeres Risiko für das Ereignis Tod gibt im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ein HR>1 bedeutet, dass es für die beobachtete Gruppe ein erhöhtes Risiko für das Ereignis Tod gibt im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Wird nach dem festgelegten Signifikanzniveau ein p-Wert von <0,05 erreicht, so ist die Variable als ein unabhängiger Faktor mit signifikantem Einfluss auf das Gesamtüberleben zu verstehen. Die Ergebnisse werden ausschließlich in Betracht der Beobachtungszeit interpretiert. Zur Berechnung der Konfidenzintervalle wird eine Normalapproximation angewendet.

Für die eingeschlossene Patientenkohorte haben die Faktoren Ulzeration und vorherige BRAF-Therapie den signifikantesten unabhängigen Einfluss auf das Gesamtüberleben. Die Reaktivität, das Stadium und das Geschlecht stellen keine unabhängigen Risikofaktoren dar.

Die Hazard Ratio für die Variable Ulzeration betrug 0,61 (95%-KI: 0,41-0,90). Damit hatten Patienten ohne positiven Ulzerationsstatus ein geringeres Risiko zu versterben als Patienten mit Ulzerationen. Der p-Wert mit 0,014 zeigte den signifikanten Einfluss diesen Risikofaktors auf das Überleben.

Für die Variable BRAF-Therapie betrug die Hazard Ratio 0,42 (95%-KI: 0,22-0,80). Das bedeutet, dass bei Patienten mit nicht zuvor erfolgter BRAF-Therapie ein geringeres Sterberisiko vorlag im Vergleich zu denen mit erfolgter Therapie.

Der p-Wert von 0,009 zeigte dementsprechend, dass es sich um einen signifikanten Risikofaktor auf das Gesamtüberleben handelte.

Die Hazard Ratio für die Reaktivität betrug 0,85 (95%-KI: 0,57-1,26). Damit hatten CMV-negative Patienten ein vermindertes Sterberisiko im Vergleich zu CMV-positiven Patienten. Da der p-Wert aber größer als das Signifikanzniveau von 0,05 war, wurde es nicht als signifikanter unabhängiger Risikofaktor für das Überleben gewertet.

Im Stadium III hatten Patienten innerhalb des Beobachtungszeitraumes eine Risikominderung zu versterben im Vergleich zu den Patienten im Stadium IV (HR=0,89 bei 95%-KI von 0,57 bis 1,37). Es stellt jedoch keinen signifikanten Risikofaktor dar (p=0,59).

Für den Faktor Geschlecht wurde eine Hazard Ratio von 0,96 (95%-KI: 0,64-1,43) festgestellt. Das weibliche Geschlecht hatte demnach ein vermindertes Risiko im Vergleich zum männlichen Geschlecht zu versterben. Es stellt sich ebenfalls als kein signifikanter unabhängiger Risikofaktor dar (p=0,84).

Tabelle 3 spiegelt die Ergebnisse der einzelnen Hazard Ratios wider.

Tabelle 3 Hazard Ratios der einzelnen Variablen mit 95% Konfidenzintervall

Hazard Ratios für Ulzeration

Stufe1	/Stufe2	Verhältnis Ausfallrate	Wahrsch. > Chi-Qu.	Unterhalb	Obere
nein	ja	0,6094004	0,0140*	0,4104396	0,9048075
ja	nein	1,6409573	0,0140*	1,1052075	2,4364121

Hazard Ratios für Vorher_BRAF

Stufe1	/Stufe2	Verhältnis Ausfallrate	Wahrsch. > Chi-Qu.	Unterhalb	Obere
nein	ja	0,4175837	0,0087*	0,2174335	0,8019744
ja	nein	2,3947297	0,0087*	1,2469226	4,5991067

Hazard Ratios für Reaktivität

Stufe1	/Stufe2	Verhältnis Ausfallrate	Wahrsch. > Chi-Qu.	Unterhalb	Obere
reaktiv	nicht reaktiv	1,1760356	0,4226	0,791207	1,7480378
nicht reaktiv	reaktiv	0,8503144	0,4226	0,57207	1,2638918

Hazard Ratios für Stadium

Stufe1	/Stufe2	Verhältnis Ausfallrate	Wahrsch. > Chi-Qu.	Unterhalb	Obere
IV	III	1,1273916	0,5878	0,7307544	1,7393147
III	IV	0,8870032	0,5878	0,5749391	1,3684488

Hazard Ratios für Geschlecht

Stufe1	/Stufe2	Verhältnis Ausfallrate	Wahrsch. > Chi-Qu.	Unterhalb	Obere
weiblich	männlich	0,9594783	0,8383	0,6448275	1,4276665
männlich	weiblich	1,042233	0,8383	0,7004437	1,5508022

3.6 Zunahme der Seroprävalenz mit ansteigendem Alter

In diesem Kapitel soll veranschaulicht werden, ob es im fortgeschrittenen Alter zu einem Anstieg der Seroprävalenz kommt. Die Patienten wurden dafür nach Reaktivitätsstatus getrennt in zwei Balkendiagrammen mit unterschiedlichen Altersintervallen abgebildet.

In dem Patientenkollektiv von insgesamt 471 Melanompatienten zeigte sich in Abbildung 10, dass sich im Altersintervall von 10-19 Jahren ausschließlich seronegative Patienten befanden. Die Alterspannen von 20-29 Jahren und 30-39 Jahren zeigten eine annähernd gleichmäßige Verteilung der beiden Reaktivitätsgruppen. Die Patientenaltersgruppen von 40-49 Jahren und 50-59 Jahren stellten eine ähnliche Aufteilung von etwa 42% reaktiver Patienten zu 58% nicht reaktiver Patienten dar. Damit kam es im Vergleich zu den zwei jüngeren Altersgruppen zu einem Abfall der reaktiven Patienten. Ab den Altersgruppen von

60-69 Jahren stieg die Reaktivität innerhalb dieser Zeitspanne wieder an auf 56%. Eine ähnliche Tendenz wurde in der Altersgruppe von 70-79 Jahren ersichtlich, jedoch mit einem geringfügigen Abstieg der Reaktivität auf 53% im Vergleich zur vorherigen Altersgruppe. In dem Altersintervall von 80-89 Jahren ergab sich ein deutlicher Überschuss von 70% an reaktiven Patienten zu den restlichen 30% nicht reaktiver Patienten. In der Altersspanne von 90-99 Jahren ließ sich bei allen Patienten (100%) eine positive Seroprävalenz beobachten.

Um den Anstieg der Seroprävalenz noch deutlicher zu veranschaulichen, wurde in Abbildung 11 die Alterspanne auf 25-Jahres-Intervalle verlängert.

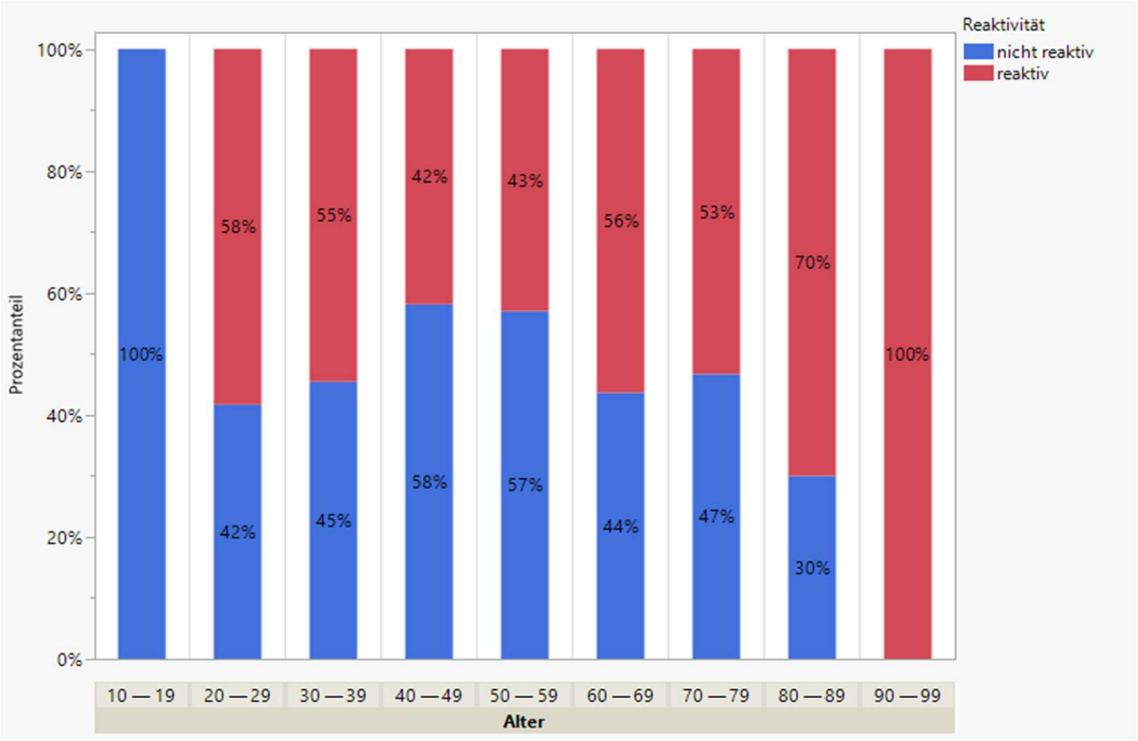


Abbildung 10 Zunahme Seroprävalenz mit aufsteigendem Alter nach 10-Jahres-Intervall im Balkendiagramm

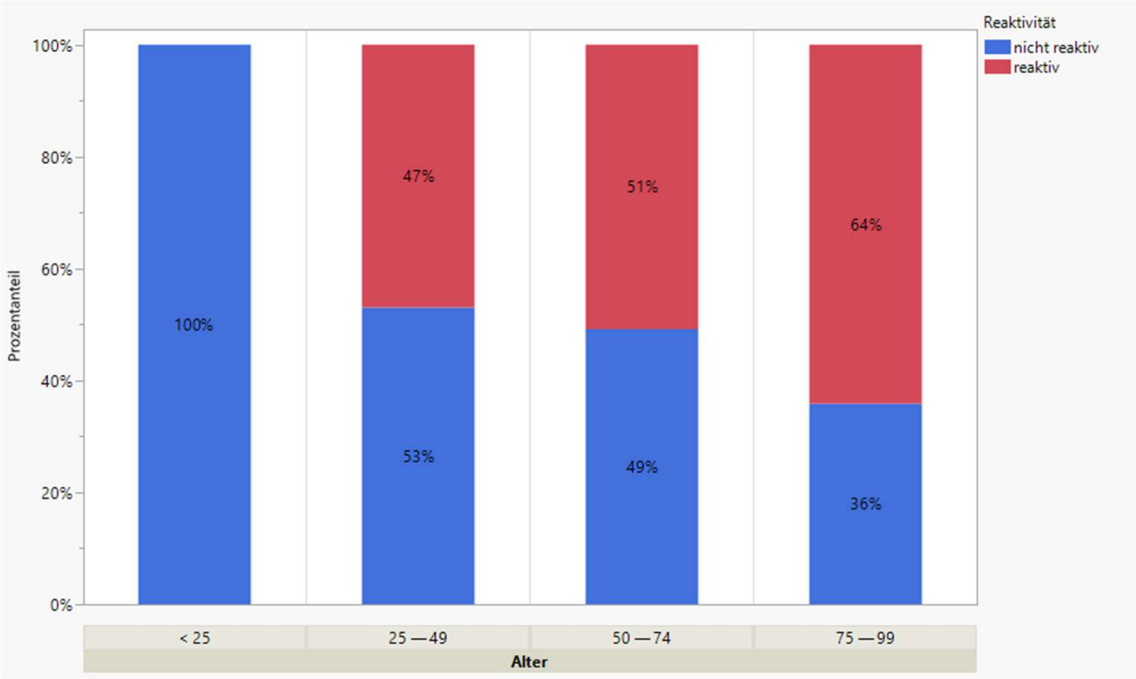


Abbildung 11 Zunahme Seroprävalenz mit aufsteigendem Alter nach 25-Jahres-Intervall im Balkendiagramm

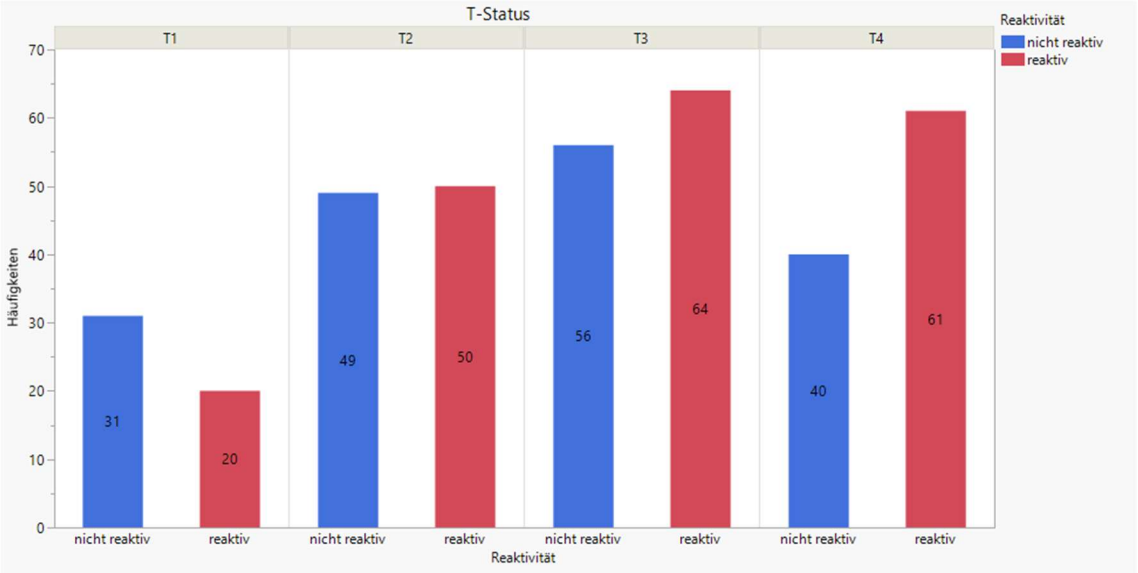
3.7 Zusammenhang Tumordicke und Reaktivität

Die letzte Fragestellung beschäftigt sich mit der Hypothese, ob seropositive Patienten durch Veränderung der Mikroumgebung in Tumoren einen besseren Nährboden für den Tumorprogress bilden im Gegensatz zu seronegativen Patienten. Demnach müssten CMV+ größere Tumordicken aufweisen als CMV-. Dieser Zusammenhang wird getrennt nach Reaktivitätsstatus anhand der aufsteigenden Tumordicke, entsprechend dem T-Status der TNM-Klassifikation, in einem Balkendiagramm verdeutlicht. Mittels dem Chi²-Test, wird ein statistisch signifikanter Zusammenhang der beiden kategorialen Variablen T-Status (nach Tumordicke) und Reaktivität getestet.

Von den insgesamt 471 Melanompatienten wurde bei 100 Patienten keine Angabe zur Tumordicke gemacht. Bei den restlichen 371 Patienten lag die Verteilung bei einer minimalen Dicke von 0,1 mm bis zu einer maximal gemessenen Dicke von 28 mm.

In dem Längenintervall von ≤ 1 mm, entsprechend dem T1 Status, überwog mit 31 Patienten die nicht reaktive Gruppe im Vergleich zu der reaktiven Gruppe mit 20 Patienten. In der Spannbreite von >1-2 mm (T2 Status) befanden sich 49 nicht reaktive Patienten und 50 reaktive Patienten. Im T3 Status (>2-4 mm) erkennt man den Anstieg der reaktiven Patienten im Gegensatz zu den nicht reaktiven Patienten, auch wenn dieser nur leicht an Überhand gewonnen hatte (64 reaktive Patienten zu 56 nicht reaktiven Patienten). Der Anstieg der Seropositivität im T4 Status (>4 mm) ist hier noch deutlicher zu erkennen mit 61 reaktiven Patienten zu 40 nicht reaktiven Patienten.

Anhand dieser Patientenkohorte ließ sich beobachten, dass man ab einer Tumordicke von etwa 2 mm, entsprechend dem T3 Status, eine größere Patientenmenge mit Seropositivität erwarten konnte. Jedoch gab es nach dem Chi²-Test keinen statistisch signifikanten Zusammenhang der beiden Variablen (p>0,05). Abbildung 12 zeigt das Balkendiagramm:



N	Freiheitsgrade	-LogLike	r^2 (U)
371	3	3,1800040	0,0124

Test	Chi^2	Wahrsch. > Chi^2
Likelihood-Verhältnis	6,360	0,0953
Pearson Chi^2	6,326	0,0968

Abbildung 12 T-Status nach Reaktivität für einen Chi^2-Test im Balkendiagramm

4.) Diskussion

In der vorliegenden retrospektiven Arbeit wurden in einem 3-jährigen Zeitraum 471 Melanompatienten, die eine ICI-Therapie erhielten, in den Stadien III und IV aus dem Patientenregister des Uniklinikums Tübingen auf CMV-Reaktivität untersucht. Das mediane Alter der Melanompatienten lag dabei in der 6. Lebensdekade entsprechend der zusammengefassten Ergebnisse aus anderen Kliniken in Deutschland mit einem ermittelten medianen Alter von 62 Jahren[75].

4.1 Reaktivität und Überleben

Die multivariate Cox-Regressionsanalyse ergab, dass der CMV-Status kein signifikanter unabhängiger Risikofaktor auf das Gesamtüberleben der Melanompatienten darstellte (HR: 0,85, 95% KI: 0,57-1,26, p=0,42).

Es wurde bereits ausführlich über die negativen Folgen einer Seropositivität in der Einleitung berichtet. Daraus resultierte die Hypothese, dass Seropositivität das Überleben signifikant beeinflussen würde, einhergehend mit einer erhöhten Sterblichkeit.

Auch in einer aktuellen retrospektiven Studie von Huang et al konnte dieser Effekt nachgewiesen werden, in der die allgemeine Sterblichkeit mit einem um 11% vergrößertem Risiko bei seropositiven Patienten festgestellt wurde[41].

Es gibt jedoch auch einige Studien, die keine Assoziation der Reaktivität mit dem Gesamtüberleben aufzeigen konnten. So konnte bei der Studie von Chen et al kein signifikanter Unterschied in der Gesamtsterblichkeit von älteren Patientengruppen (59-93 Jahren) seropositiver und seronegativer Patienten gefunden werden. Wie bereits beschrieben, fördert eine CMV-Infektion das Immunsystem zu einem entzündungsanfälligeren Millieu[76]. Die Annahmen, dass das vermehrte Auffinden von CRP, welches bei Entzündungsreaktionen gebildet

wird und in anderen Studien mit einer erhöhten Mortalität bei seropositiven Patienten in Verbindung gesetzt wurde[77], sei nicht in Korrelation zu setzen, da in der untersuchten Patientenkohorte von Chen et al kein Unterschied bei Wegfall und Zunahme dieser Variable mit der Sterblichkeit in Verbindung gesetzt werden konnte[78].

Des Weiteren konnte Matheï et al auch kein Unterschied in der Sterblichkeit bei seropositiven, alleinlebenden Rentnern über 80 Jahren feststellen. Jedoch zeigte sich in dieser Studie, dass Patienten, die ein hohen CMV-Titer hatten, entsprechend einer aktiven Reinfektion im Alter, eine höhere Sterblichkeit aufwiesen. Es wird aber davon ausgegangen, dass es sich bei der Reinfektion mit dem erhöhten Titer um eine Konsequenz des versagenden Immunsystems handele und nicht die Infektion selber zum Tode führe[79].

Für die Korrelation, dass Seropositivität tatsächlich mit dem Überleben assoziiert werden kann, muss vermutlich die zu analysierende Patientenmenge erhöht werden. In dieser Arbeit sollte mittels der vorgenommenen Fallzahlberechnung ein Überlebensunterschied von mindestens 20 Prozentpunkten zwischen den Überlebenskurven der reaktiven und nicht reaktiven Patienten nachgewiesen werden.

Dieser Prozentpunkteunterschied wurde hypothetisch gewählt, um einen signifikanten Unterschied der Serogruppen aufzuzeigen. Denn die Patientenanzahl in dieser Arbeit hätte zum Nachweis dieses Prozentpunkteunterschieds ausgereicht. Ziel war es daher zumindest einen statistisch nachweisbaren signifikanten Unterschied zwischen CMV+ und CMV- zu beobachten.

In dieser retrospektiven Arbeit wurden 219 Patienten im Stadium III adjuvant behandelt. Demnach lag ein Überschuss von 39 Patienten zu der errechneten Fallzahl von 180 Patienten vor. Es wäre theoretisch möglich gewesen einen signifikanten Überlebensunterschied zwischen den Überlebenskurven reaktiver und nicht reaktiver Patienten nachzuweisen.

Bei der tatsächlichen Darstellung der Kaplan-Meier-Überlebenskurven der CMV+ und CMV- Patienten im Stadium III bei adjuvanter Therapie mit N=219, entsprach die Verteilung der Reaktivität dem angenommenen Verhältnis von 55% CMV+ Patienten (N=120) und 45% CMV- Patienten (N=99). Diese Werte wurden auch für die Fallzahlberechnung genutzt. Jedoch ließ sich in der 4-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit kein signifikanter Überlebensunterschied nachweisen. Die Konfidenzintervalle beider Reaktivitätsgruppen überlappten sich, wie in Abbildung 6 ersichtlich ist.

Die CMV- Patienten wiesen dabei eine Tendenz zu einem leicht verlängerten Überleben auf. Entsprechend der aufgestellten Hypothese lag der p-Wert jedoch bei 0,29. Es konnte damit kein signifikanter Überlebensunterschied im Stadium III bei adjuvanter Therapie zwischen den beiden Reaktivitätsgruppen festgestellt werden.

Da jedoch anhand der Überlebenskurven die Tendenz der verlängerten Überlebenszeit in der negativen Reaktivitätsgruppe zu sehen war, könnte durch die Erhöhung der Stichprobenanzahl dieser Effekt des Ergebnisses deutlicher zum Vorschein gebracht werden. Denn in der Literatur wird die Seropositivität in Tumorpatienten mir einer verkürzten Lebensdauer bestätigt[80,81].

Die Patientenanzahl im Stadium IV unter nicht adjuvanter Therapie, die innerhalb dieser retrospektiven Arbeit beobachtet wurde, belief sich auf eine Anzahl von N=196. Damit lag ein Patientenüberschuss von 7 Patienten vor, im Vergleich zu der errechneten Stichprobenanzahl von 189 Patienten, um den beispielhaften Überlebensunterschied von 20 Prozentpunkten CMV+ und CMV- Patienten aufzuzeigen.

Bei der tatsächlichen Darstellung der Überlebenskurven der reaktiven und nicht reaktiven Patienten im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapie mit N=196, entsprach die Verteilung mit N=101 CMV+ Patienten (52%) und N=95 CMV- Patienten (48%) nur knapp nicht der angenommen Verteilung der Fallzahlberechnung. In der 3-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit ließ sich auch kein Unterschied zwischen der reaktiven und nicht reaktiven Überlebenskurven feststellen. Sowohl im Gesamtüberleben als auch im

progressionsfreien Intervall überschneiden sich die Konfidenzintervalle, wie in Abbildung 7 und Abbildung 5 zu sehen ist.

Nach dem Log-Rank-Test ergab sich im Gesamtüberleben ein p-Wert von 0,75, welches damit auch keinen signifikanten Überlebensunterschied zwischen den beiden Reaktivitätsgruppen feststellen ließ.

In einigen Studien wurde ein „onkoprotektiver“ Effekt von CMV beschrieben. So konnte Rashid et al bei CMV-positiven Patienten weniger oft und zeitlich versetzter Bronchialkarzinome diagnostizieren als bei Patienten ohne CMV Nachweis[82]. Rashid et al spekulierten dabei, ob der Grund hierfür eine bessere immunvermittelte Proliferation der Natürlichen Killerzellen bei CMV+ sein könnte. Auch Nagel et al zeigten einen CMV protektiven Effekt durch eine verminderte Inzidenz von Kolorektalkarzinomen bei CMV+ Patienten auf[83].

Zwar wird noch geforscht, wie genau der onkoprotektive Effekt bei einer CMV-Infektion entsteht, jedoch zeigt sich durch die aufgeführten Studien, dass CMV vermutlich nicht nur die vermeintlichen onkomodulatorischen Auswirkung aufweist, wie in der Einleitung beschrieben wurde.

Vielmehr sei es nach Jankovic et al entscheidend, in welcher Lebensphase es zu einer Infektion mit dem Virus kommt. So verweist er auf einen protektiven Charakter einer spät erfolgten CMV-Infektion bei einigen Krebsarten, wohingegen eine kongenitale oder eine im Kindesalter erfolgte Ansteckung, mit erhöhtem Risiko einer Krebsentwicklung verbunden sein kann[84].

Es muss jedoch erwähnt werden, dass es sich um Beobachtungen handelt, die nur anhand von kleinen Patientengruppen beschrieben wurden. Das Zustandekommen von dem genauen onkoprotektivem Effekt von CMV-Reaktivität wird derzeit noch immer erforscht.

Die onkomodulatorische Auswirkung, wie die zelluläre Mikroumgebung zugunsten des Tumorwachstums ausgelegt wird[85], wurde hingegen vielfach wissenschaftlich in der Literatur nachgewiesen. Der Zusammenhang, der größeren Tumordicke und der CMV-Reaktivität, sollte anhand der Veranschaulichung an einem Balkendiagramm nach T-Status geordnet, gezeigt

werden, wie in Abbildung 12 ersichtlich ist. Tatsächlich konnte in dieser Arbeit vermehrt bei Seropositiven eine Tumordicke von >2mm vorgefunden werden, jedoch hatte dieses Ergebnis keine statistische Signifikanz (Chi²-Test: $p>0,05$).

In einigen Studien konnte eine vermehrte Tumorprogression und Angiogenese in experimentellen Modellen nachgewiesen werden. So wurde in der Studie von Krenzlin et al Mäuse mit Murin-CMV infiziert, um das Tumorwachstum von Glioblastomen zu untersuchen. Tatsächlich kam es dabei durch die erhöhte Angiogenese zu einem stärkeren Blutfluss, resultierend in größerem Tumorwachstum in MCMV+ Mäusen[86]. CMV induziert dabei vermutlich das PDGF-D, welches als Wachstumsfaktor die Tumorproliferation steuert[86]. Yang et al konnten in Mäusen mit Brusttumoren zwar in den Primärtumoren kein vermehrtes Größenwachstum generell in CMV+ Mäusen beobachten, dafür aber die Ausbildung von besser proliferierten Lungenmetastasen, die in der Größe und Anzahl der von CMV- Mäusen überlegen waren[87]. In diesen Studien handelt es sich zwar um Tierexperimente, aber der onkomodulatorische Effekt, der die Proliferation verbessert und zugunsten des Tumorwachstums ausgelegt war, wurde bestätigt. Es bleibt auch zu erwähnen, dass mit größerem Tumorwachstum und der Metastasierungsgefahr, die Tiermodelle in diesen Experimenten ein verringertes Überleben aufwiesen[86,87].

Der Aspekt, ob bei Melanompatienten ein verringertes Überleben mit größeren Tumordicken assoziiert werden kann, wurde in dieser Arbeit nicht überprüft. Da aber nur Patienten im Stadium III und IV miteinbegriffen waren, lagen Metastasen in beiden Reaktivitätsgruppen vor und die größeren Tumordicken, entsprechend einer besseren Zellproliferation, wurde in der CMV+ Gruppe im T3 Status mit 53% und im T4 Status mit 60% im Vergleich zur CMV- Gruppe nachgewiesen.

4.2 Therapieart und Überleben

Um das Ansprechen der Therapieart getrennt nach Reaktivitätsstatus auf das Überleben zu vergleichen, wurde im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapie die Monotherapiebehandlung mit einem aPD-1 Antikörper und einer

Kombinationstherapie mit aPD-1 und aCTLA-4 analysiert. Es ergab sich kein Unterschied im progressionsfreien Intervall und im Gesamtüberleben.

Die Monotherapiebehandlung in der CMV+ Gruppe hatte dabei das größte mediane progressionsfreie Intervall mit 1,98 Jahren, gefolgt von der Kombinationstherapiebehandlung in der CMV+ Gruppe mit 0,73 Jahren.

Die nicht reaktive Gruppe mit der Monotherapiebehandlung zeigte das größte mediane Gesamtüberleben mit 6,92 Jahren, gefolgt von der reaktiven Gruppe mit der Monotherapiebehandlung, bei der die mediane Gesamtüberlebenszeit 4,94 Jahre betrug.

Der p-Wert mit 0,32 im progressionsfreien Intervall und mit p=0,52 im Gesamtüberleben zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den verglichenen Gruppen.

Obwohl kein signifikanter Unterschied in der Therapieart vorlag, lässt sich bei Betrachtung der Konfidenzintervallwerte im Gesamtüberleben beobachten, dass beide Kombinationstherapiegruppen in der CMV+ und CMV- Gruppe im Vergleich zu den beiden Monotherapiebehandlungsgruppen schlechter abgeschnitten haben. Im progressionsfreien Intervall hatten zudem die reaktiven Patienten der Monotherapiegruppe das größte mediane progressionsfreie Intervall.

Dies widerspricht sich jedoch mit der Literatur, da üblicherweise die Kombinationstherapie bessere Erfolge erzielt[88], wie auch bereits in der Einleitung beschrieben wurde. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnte die gezielte Patientenselektion für eine Therapieart sein, die zugunsten des Patientenwohls aus fachlicher Sicht der Ärzte entschieden wird. In sämtlichen Studien hingegen, wie sie in der Literatur beschrieben werden, findet dagegen oft eine randomisierte Einteilung der Patienten in bestimmte Therapiebehandlungsgruppen statt. Des Weiteren sind die fehlende Einteilung der Lokalisation, die Anzahl der Fernmetastasen und die einhergehende allgemeine körperliche Verfassung der Patienten Gründe, weshalb vermutlich die Ergebnisse dieser Auswertung nicht mit der Literatur übereinstimmen. In dieser

Arbeit wurde nämlich keine Unterteilung zu diesen Kriterien im Stadium IV bei nicht adjuvanter Therapie vorgenommen.

Die Kombinationstherapie wird oft Patienten mit einer hohen Tumorlast verabreicht. Eine Monotherapie wird Patienten üblicherweise im Stadium IV gegeben, wenn wenig Tumorlast vorherrscht oder der Allgemeinzustand des Patienten derart beeinträchtigt ist, dass die möglichen eintretenden Nebenwirkungen schlechter ertragen werden. Das Auftreten von Nebenwirkungen und die Stärke der Ausprägung der Nebenwirkungen bei einer Kombinationstherapie ist nämlich erhöht[24].

Generell erweist sich eine Kombinationstherapiebehandlung mit Nivolumab und Ipilimumab in nicht resezierbaren Tumoren besser als die Monotherapiebehandlung mit Ipilimumab[89].

Eine negative Konsequenz der Kombinationstherapiebehandlung ist, wie bereits erwähnt, das vermehrte Auftreten von Nebenwirkungen, speziell die Hepatotoxizität, Nephrotoxizität, Gastrointestinaltoxizität, Dermatotoxizität,etc[89,90].

In dieser Arbeit sollten ursprünglich zusätzlich die Nebenwirkungen der Patienten unter ICI-Therapie analysiert werden. Retrospektiv können Nebenwirkungen jedoch nur fehlerhaft erhoben werden, aufgrund von nicht vollständig dokumentierten Begleitsymptomen und nicht klar zuordnungsbarer Gradeinteilung in die CTCAE-Klassifikation. Deshalb fand keine Analyse dieser Daten statt.

4.3 Seroprävalenz im Alter

Die Annahme der steigenden Seropositivität im Alter der Melanompatienten konnte in dieser Arbeit veranschaulicht werden, wie in Abbildung 11 ersichtlich ist. Der Zusammenhang der vermehrten Inzidenz eines positiven Titers und dem steigenden Alter ist in der allgemeinen Bevölkerung bereits bekannt[41,91].

Lachmann et al haben bei der Untersuchung von 6552 Blutproben von Patienten im Alter von 18-79 Jahren in Deutschland feststellen können, dass in den Altersgruppen von 18-29 Jahren im Vergleich zu der Altersgruppe 70-79 Jahren die positive Seroprävalenz bei Männern von 32% auf 68% angestiegen ist. Bei den Frauen lag der Anstieg bei derselben Altersgruppen von 43% auf 77%[92].

In dieser Arbeit wurde keine Geschlechtertrennung in der Analyse vorgenommen, jedoch ist in Abbildung 10 ersichtlich, dass in der Altersspanne von 20-29 Jahren die Seroprävalenz bei 58% lag und im Vergleich mit der Altersspanne von 70-79 Jahren die Seroprävalenz auf 53% abgesunken war. In dem Vergleich dieser zwei Altersintervalle mit der Studie von Lachmann et al widerspricht es zwar der Hypothese der steigenden Seroprävalenz im Alter. Jedoch ist in Abbildung 11 der deutliche Anstieg anhand der 25-Jahres-Altersintervalle gut erkennbar (47% (25-49 Jahre) zu 64% (75-99 Jahre)).

Ein Großteil der Patienten befanden sich in der 5. bis 8. Lebensdekade. Demensprechend kann nicht von einer homogenen Altersverteilung ausgegangen werden, wie es in der Patientenkohorte von Lachmann et al aufgrund der größeren Probenmenge der Fall war. Jedoch ist die Tendenz der ansteigenden Seropositivität mit dem Alter generell auch in dieser Arbeit ersichtlich.

4.4 Verschiedene Faktoren und Überleben

In der Literatur vermerkt sich die Anzahl der männlichen Melanompatienten erhöht im Gegensatz zu den weiblichen Melanompatientinnen[93,94]. Es scheint eine Prädisposition gegenüber dem männlichen Geschlecht zu geben. Der Unterschied in diesem Patientenkollektiv lag bei 10 Prozentpunkten (55% männlich zu 45% weiblich).

In einer multizentrischen deutschen Studie waren von 2032 Melanompatienten 63% männlich und 37% weiblich[95]. Dieses Patientenkollektiv bestand jedoch nur aus Stadium IV Patienten. In einer weiteren europäischen Studie zeigten sich bei

4040 Patienten im Stadium III und IV, 58% männliche Patienten und 42% weibliche Patienten[96]. Diese Werte decken sich nahezu mit dieser Arbeit.

Nach der Cox-Regressionsanalyse stellte sich in dieser Arbeit die Variable Geschlecht als kein signifikanter unabhängiger Risikofaktor auf das Überleben dar mit einer Hazard Ratio von 0,96 (95% KI: 0,64-1,43) bei einem p-Wert von 0,84. Frauen hatten demnach ein vermindertes Sterberisiko im Vergleich zum männlichen Geschlecht.

Auch wenn dieser Effekt kein signifikanten Risikofaktor darstellte, konnte tatsächlich in mehreren Studien das weibliche Geschlecht mit einer besseren Lebensprognose in Verbindung gesetzt werden[97,98]. Der bessere Stoffwechsel von oxidativem Stress bei Frauen[99], der Unterschied im Vitamin D Metabolismus durch Geschlechtshormone[103,104] und das vermehrte Auffinden von Androgenrezeptoren in Melanommetastasen[102] sind Hypothesen, weshalb Frauen ein geringeres Sterberisiko aufweisen und weiter erforscht werden müssen[103].

In dieser Arbeit waren von den Frauen 59% seropositiv und 41% seronegativ. Bei den Männern hingegen überwog mit 52% die seronegative Gruppe zu den 48% seropositiver Patienten, wie in Tabelle 2 ersichtlich ist.

Das Überwiegen der Seropositivität im weiblichen Geschlecht spiegelt sich auch in der Literatur wider. So waren in der Studie von Lachmann et al, in der die Seroprävalenz der deutschen Bevölkerung aus Blutproben bestimmt wurde, rund 62% der Frauen CMV+ im Gegensatz zu 51% der Männer[92]. Ähnliche Ergebnisse konnten auch in Frankreich, Canada und in den USA vorgefunden werden[104,105].

Mögliche Gründe könnte die vermehrte Exposition zu Kleinkindern, die CMV+ sind, sein. Wie bereits in der Einleitung erläutert, zeigen Kinder bis zum 8. Lebensjahr die größte Viruslastmenge auf. Aufgrund der gesellschaftlichen Aufgaben-/ und Rollenverteilung sind Frauen demnach mit einer größeren Wahrscheinlichkeit demgegenüber ausgesetzt[106]. Auch die sexuelle Aktivität der Frau kann durch die bessere Transmission bei vaginalem Geschlechtsverkehr

und die hohe Viruslastmenge im Samen zu einer vermehrten Infektionsgefahr bei Frauen mit multiplen Geschlechtspartnern führen[106].

Die Variable Stadium erwies sich als kein signifikanter Risikofaktor in der Cox-Regressionsanalyse mit einer Hazard Ratio von 0,89 (95% KI: 0,57-1,37) bei einem p-Wert von 0,59. Es ließ sich in der Analyse erkennen, dass Patienten im Stadium III mit adjuvanter Therapie eine Sterberisikominderung im Vergleich zu Patienten im Stadium IV mit nicht adjuvanter Therapie hatten, auch wenn es keine statistische Signifikanz hatte.

Die Anwendung der adjuvanten Therapie erfolgt als eine Vorsichtsmaßnahme zur Beseitigung von möglichen gestreuten Mikrometastasen nach Resektion des Primarius. Typischerweise erfolgt die adjuvante ICI-Therapie in den Stadien III und IV[7]. Seit Juni 2022 auch schon ab dem Stadium IIB mit Pembrolizumab[22]. Bei nicht operativ entfernbaren Tumoren erfolgt die Behandlung direkt mit ICI, als sogenannte nicht adjuvante Therapiebehandlung. Somit ist ein Großteil der Patienten im Stadium IV mit Fernmetastasen inoperabel und haben generell eine schlechtere Prognose als Patienten mit resezierbaren Tumoren im Stadium III[107]. Dies bestätigt auch die Ergebnisse der Hazard Ratios dieser Arbeit, dass Patienten mit nicht adjuvanter Therapie, wie es im Stadium IV erfolgt, schlechtere Überlebenschancen aufweisen als Patienten im Stadium III mit adjuvanter Therapie.

Es bleibt jedoch zu erwähnen, dass heutzutage das Überleben von Patienten in jedem Stadium drastisch verbessert worden ist durch die innovativeren Therapiemöglichkeiten. Speziell Patienten, die noch vor 10 Jahren ein medianes Gesamtüberleben im Stadium IV von 6-8 Monaten zeigten, können heute durch die systemische ICI-Therapie ein Gesamtüberleben von bis zu 6,5 Jahren erreichen[108].

Die vorherige BRAF-Therapie zeigte sich in der multivariaten Cox-Regressionsanalyse als ein sehr signifikanter Risikofaktor auf das Überleben mit einer Hazard Ratio von 0,42 (95% KI: 0,22-0,80) bei einem p-Wert von 0,009. Demnach hatten Patienten, die keine vorherige BRAF-Therapie erhielten, ein

verringertes Sterberisiko im Vergleich zu Patienten mit vorheriger BRAF-Therapie.

Dieses Ergebnis deckt sich auch mit der SECOMBIT Studie, in der randomisierte Patienten mit einer Mutation im Codon BRAF-V600 in drei Behandlungsgruppen unterteilt wurden, um den Effekt auf die Gesamtüberlebenszeit bei unterschiedlicher sequenzieller Gabe der zielgerichteten und adjuvanten ICI-Therapie zu prüfen[109]. Die Gruppe, die die ICI-Kombinationstherapie bis zum Krankheitsprogress bekommen hatte und anschließend erst mit der zielgerichteten Therapie behandelt wurde, hatte eine 3-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit von 62%. Die Patientengruppe, die als Erstlinientherapie mit Encorafenib und Binimetinib bis zum Krankheitsprogess therapiert wurde und anschließend erst die ICI-Kombinationstherapie bekam, hatte dabei lediglich eine 3-Jahres-Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit von 54%[109]. Somit stimmen die Ergebnisse dieser Arbeit mit dem bisherigen Wissensstand überein.

Grundsätzlich zeigen Patienten mit dieser Mutation eine schlechtere Prognose und ein verringertes Überleben auf, wie auch Ardekani et al in seiner Studie aufzeigen konnte, bei der bei BRAF-V600 mutanten Melanompatienten das Sterberisiko um den Faktor 1,7 erhöht war[110].

Einen weiteren sehr signifikanten unabhängigen Risikofaktor stellten Ulzerationen in dieser Patientenkohorte dar, wie aus der Cox-Regressionsanalyse mit einem Hazard Ratio von 0,61 (95% KI: 0,41-0,90) bei einem p-Wert von 0,014 zu erschließen war. Demnach haben Patienten ohne Ulzerationen ein vermindertes Sterberisikoprofil im Vergleich zu Patienten mit Ulzerationen.

Die AJCC charakterisiert drei große Prognosefaktoren für das Überleben, zu der die Tumorgröße, die Mitoserate und auch der Ulzerationsstatus gehören[111]. Bis heute wird in der Literatur darüber spekuliert, wieso es zu der Ausbildung dieses Phänotyps kommt[112]. Dabei zeigt sich vor allem eine Korrelation zwischen der Genexpression von vermehrten Entzündungsmediatoren, wie dem IL-6, und dem Ulzerationsstatus[113].

Wie bereits beschrieben, ändert eine CMV-Infektion die Genexpression zugunsten von Entzündungsmediatoren, die möglicherweise auch Ulzerationen auslösen könnten. In dieser Arbeit wurde jedoch nicht analysiert, ob es dabei einen Zusammenhang von vermehrtem Auftreten von Ulzerationen bei reaktiven Patienten kommt. Dies bedarf weiterer Forschung.

Nach in t'Hout et al sei die Ausdehnung der Ulzeration, der bessere Prognosefaktor, als nur die klinische Einteilung eines vorhandenen oder nicht vorhandenen Ulcus[114]. Denn extensiv ausgedehnte Ulzerationen konnten mit einem deutlich schlechteren Überleben assoziiert werden als nur minimal ulzerierte Primarien.

Abschließend lässt sich schlussfolgern, dass in dieser Arbeit kein signifikanter Überlebensunterschied zwischen CMV- und CMV+ Patienten im progressionsfreien Intervall und im Gesamtüberleben aufgezeigt werden konnte. Um jedoch die Hypothese zu widerlegen, dass CMV+ Patienten schlechtere Überlebenswahrscheinlichkeiten haben als CMV-, muss dieser Effekt in weiteren prospektiven klinischen Studien mit größeren Patientenkohorten definitiv ausgeschlossen werden.

5.) Zusammenfassung

Im Zeitraum von 2018 bis 2021 wurden vom Patientenregister des Uniklinikums Tübingen 471 Melanompatienten im Stadium III und Stadium IV für diese Arbeit nach CMV-Reaktivität analysiert. Voraussetzung war die Therapie einer Immuncheckpointinhibition.

Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkung einer CMV-Reaktivität auf das Überleben dieser Melanompatienten zu beleuchten. Es sollte dabei ein Unterschied im Überleben aufgezeigt werden. Dazu wurde getrennt nach dem progressionsfreien Intervall und nach dem Gesamtüberleben analysiert.

Zur Rekrutierung der benötigten Stichprobenanzahl wurde eine Fallzahlberechnung nach dem inländischen Reaktivitätsverhältnis von 55% CMV positiver Patienten zu 45% CMV negativer Patienten vorgenommen.

Die Mehrheit der Patienten wurden adjuvant im Stadium III behandelt (N=219) und nicht adjuvant im Stadium IV therapiert (N=196). Der restliche Anteil der Patienten wurde auf Grund der kleinen Kontrollgruppen nicht auf das Überleben analysiert.

Weder im Stadium III noch im Stadium IV zeigten sich nach der univariaten Analyse mittels Log-Rank-Test signifikante Überlebensunterschiede der beiden Serogruppen. Der Effekt einer verminderten Überlebenszeit bei CMV+ im Vergleich zu CMV- konnte dabei nicht klar aufgezeigt werden.

Im Vergleich der Monotherapiebehandlung und der Kombinationstherapie im Stadium IV konnte ebenfalls kein statistisch signifikanter Überlebensunterschied zwischen CMV- und CMV+ Patienten beobachtet werden.

Die Ermittlung der unabhängigen Risikofaktoren auf das Überleben der Melanompatienten dieser Studie wurden mittels der multivariaten Cox-Regressionsanalyse festgestellt. Das Ergebnis dabei war, dass die Ulzeration, und die vorherige BRAF-Therapie signifikante Risikofaktoren auf das Überleben

darstellen. Die Variablen Stadium, Geschlecht und Reaktivität konnten nicht als unabhängige Risikofaktoren auf das Überleben ermittelt werden.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es anhand von Balkendiagrammen die Zunahme der Seroprävalenz im Alter und den Tumorprogress bei CMV+ Patienten aufzuzeigen.

Bei dem Vergleich der Tumordicken zwischen reaktiven und nicht reaktiven Patienten konnte eine Tendenz beobachtet werden, dass ab dem T3-Status mehr reaktive Patienten größere Tumordicken aufzeigten, jedoch hatte dieses Ergebnis keine statistische Signifikanz.

6.) Literaturverzeichnis

1. Saginala, K., Barsouk, A., Aluru, J. S., Rawla, P. & Barsouk, A. Epidemiology of Melanoma. *Med. Sci.* **9**, 63 (2021).
2. Lazaroff, J. & Bolotin, D. Targeted Therapy and Immunotherapy in Melanoma. *Dermatol. Clin.* **41**, 65–77 (2023).
3. Jhappan, C., Noonan, F. P. & Merlino, G. Ultraviolet radiation and cutaneous malignant melanoma. *Oncogene* **22**, 3099–3112 (2003).
4. Garbe, C. *et al.* European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1: Diagnostics: Update 2022. *Eur. J. Cancer* **170**, 236–255 (2022).
5. Eisemann, N. *et al.* Longer Survival From Melanoma in Germany. *Dtsch. Ärztebl. Int.* **121**, 45–51 (2024).
6. Malignes Melanom - DGDC – Deutsche Gesellschaft für Dermatochirurgie e.V. für Patienten. https://dgdc.de/malignes-melanom.html (letzter Zugriff: 02.04.2024).
7. S3 – Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms. *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **18**, ddg.14307_g (2020).
8. Friedrich, S. & Kraywinkel, K. Faktenblatt: Epidemiologie des malignen Melanoms in Deutschland. *Onkol.* **24**, 447–452 (2018).
9. Koch-Institut, R. Krebs in Deutschland für 2019/2020. (2023) doi:10.25646/11357.
10. Di Raimondo, C., Lozzi, F., Di Domenico, P. P., Campione, E. & Bianchi, L. The Diagnosis and Management of Cutaneous Metastases from Melanoma. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 14535 (2023).
11. Hawryluk, E. B., Fisher, D. E., Hawryluk, E. B. & Fisher, D. E. Melanoma Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Phenotypes. in *Advances in Malignant*

Melanoma - Clinical and Research Perspectives (IntechOpen, 2011). doi:10.5772/23293.

12. Keim, U. *et al.* Cutaneous melanoma attributable to UVR exposure in Denmark and Germany. *Eur. J. Cancer* **159**, 98–104 (2021).

13. Clark, W. H., From, L., Bernardino, E. A. & Mihm, M. C. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* **29**, 705–727 (1969).

14. Gershenwald, J. E. *et al.* Melanoma Staging: Evidence-Based Changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth Edition Cancer Staging Manual. *CA. Cancer J. Clin.* **67**, 472–492 (2017).

15. *Chirurgie der Ohrmuschel: Verletzungen, Defekte und Anomalien*. b-002-8313 (Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2004). doi:10.1055/b-002-8313.

16. Wright, F. C. *et al.* Primary excision margins, sentinel lymph node biopsy, and completion lymph node dissection in cutaneous melanoma: a clinical practice guideline. *Curr. Oncol.* **26**, e541–e550 (2019).

17. Wheatley, K., Wilson, J. S., Gaunt, P. & Marsden, J. R. Surgical excision margins in primary cutaneous melanoma: A meta-analysis and Bayesian probability evaluation. *Cancer Treat. Rev.* **42**, 73–81 (2016).

18. Morton, D. L. *et al.* Sentinel-Node Biopsy or Nodal Observation in Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **355**, 1307–1317 (2006).

19. Castellani, G. *et al.* BRAF Mutations in Melanoma: Biological Aspects, Therapeutic Implications, and Circulating Biomarkers. *Cancers* **15**, 4026 (2023).

20. Luke, J. J. & Ott, P. A. PD-1 pathway inhibitors: The next generation of immunotherapy for advanced melanoma. *Oncotarget* **6**, 3479–3492 (2015).

21. Sosman, J. A. *et al.* Survival in BRAF V600–Mutant Advanced Melanoma Treated with Vemurafenib. *N. Engl. J. Med.* **366**, 707–714 (2012).

22. Schroeder, I. Pembrolizumab zur adjuvanten Therapie im Stadium II zugelassen. *InFo Hämatol. Onkol.* **25**, 58–58 (2022).

23. Johnson, D. B., Nebhan, C. A., Moslehi, J. J. & Balko, J. M. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **19**, 254–267 (2022).

24. Lamos, C. & Hunger, R. E. Checkpoint-Inhibitoren – Indikation und Verwendung bei Melanompatienten. *Z. Rheumatol.* **79**, 818–825 (2020).

25. Schadendorf, D. *et al.* Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *J. Clin. Oncol.* **33**, 1889–1894 (2015).

26. Lipson, E. J. & Drake, C. G. Ipilimumab: An Anti-CTLA-4 Antibody for Metastatic Melanoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **17**, 6958–6962 (2011).

27. Zou, W. & Chen, L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 467–477 (2008).

28. Erdag, G. *et al.* Immunotype and Immunohistologic Characteristics of Tumor Infiltrating Immune Cells are Associated with Clinical Outcome in Metastatic Melanoma. *Cancer Res.* **72**, 1070–1080 (2012).

29. Weber Jeffrey *et al.* Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **377**, 1824–1835 (2017).

30. Serritella, A. V. & Shenoy, N. K. Nivolumab Plus Ipilimumab vs Nivolumab Alone in Advanced Cancers Other Than Melanoma. *JAMA Oncol.* **9**, 1441–1446 (2023).

31. Chen, J. *et al.* The efficacy and safety of combined immune checkpoint inhibitors (nivolumab plus ipilimumab): a systematic review and meta-analysis. *World J. Surg. Oncol.* **18**, 150 (2020).

32. Long, G. V. *et al.* Combination nivolumab and ipilimumab or nivolumab alone in melanoma brain metastases: a multicentre randomised phase 2 study. *Lancet Oncol.* **19**, 672–681 (2018).

33. Silași, A. D. A. *et al.* Combined Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Treatment in Stage IV Melanoma Patients: A Bicentric Analysis of Real-World Data and a Modern Treatment Scenario Proving Lactate Dehydrogenase's Usefulness. *Diagnostics* **14**, 654 (2024).

34. Eggermont, A. M. M. *et al.* Prolonged Survival in Stage III Melanoma with Ipilimumab Adjuvant Therapy. *N. Engl. J. Med.* **375**, 1845–1855 (2016).

35. Shah, V. *et al.* Immune checkpoint inhibitors in metastatic melanoma therapy (Review). *Med. Int.* **4**, 1–19 (2024).

36. Ma, X., Zhang, Y., Wang, S., Wei, H. & Yu, J. Immune checkpoint inhibitor (ICI) combination therapy compared to monotherapy in advanced solid cancer: A systematic review. *J. Cancer* **12**, 1318–1333 (2021).

37. Goodrum, F. Human Cytomegalovirus Latency: Approaching the Gordian Knot. *Annu. Rev. Virol.* **3**, 333–357 (2016).

38. Mozzi, A. *et al.* Past and ongoing adaptation of human cytomegalovirus to its host. *PLoS Pathog.* **16**, e1008476 (2020).

39. Cudini, J. *et al.* Human cytomegalovirus haplotype reconstruction reveals high diversity due to superinfection and evidence of within-host recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **116**, 5693–5698 (2019).

40. Lachmann, R. *et al.* Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in the adult population of Germany. *PLOS ONE* **13**, e0200267 (2018).

41. Huang, X. *et al.* Association between cytomegalovirus seropositivity and all-cause mortality: An original cohort study. *J. Med. Virol.* **96**, e29444 (2024).

42. RKI - RKI-Ratgeber - Zytomegalievirus-Infektion. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Zytomegalievirus.html (letzter Zugriff: 08.04.2024).

43. Cannon, M. J., Schmid, D. S. & Hyde, T. B. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* **20**, 202–213 (2010).

44. Dollard, S. C., Grosse, S. D. & Ross, D. S. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev. Med. Virol.* **17**, 355–363 (2007).

45. Gupta, M. & Shorman, M. Cytomegalovirus. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2024).

46. Griffiths, P. & Reeves, M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nat. Rev. Microbiol.* **19**, 759–773 (2021).

47. Halenius, A. & Hengel, H. Human Cytomegalovirus and Autoimmune Disease. *BioMed Res. Int.* **2014**, 472978 (2014).

48. Bentz, G. L. & Yurochko, A. D. Human CMV infection of endothelial cells induces an angiogenic response through viral binding to EGF receptor and β1 and β3 integrins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 5531–5536 (2008).

49. Sylwester, A. W. *et al.* Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4 **+** and CD8 **+** T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.* **202**, 673–685 (2005).

50. Brodin, P. *et al.* Variation in the Human Immune System Is Largely Driven by Non-Heritable Influences. *Cell* **160**, 37–47 (2015).

51. Chidrawar, S. *et al.* Cytomegalovirus-seropositivity has a profound influence on the magnitude of major lymphoid subsets within healthy individuals. *Clin. Exp. Immunol.* **155**, 423–432 (2009).

52. Khan, N. *et al.* Herpesvirus-Specific CD8 T Cell Immunity in Old Age: Cytomegalovirus Impairs the Response to a Coresident EBV Infection1. *J. Immunol.* **173**, 7481–7489 (2004).

53. J. Heath, J. & D. Grant, M. The Immune Response Against Human Cytomegalovirus Links Cellular to Systemic Senescence. *Cells* **9**, 766 (2020).

54. Fletcher, J. M. *et al.* Cytomegalovirus-Specific CD4+ T Cells in Healthy Carriers Are Continuously Driven to Replicative Exhaustion1. *J. Immunol.* **175**, 8218–8225 (2005).

55. Furman, D. *et al.* Cytomegalovirus infection improves immune responses to influenza. *Sci. Transl. Med.* **7**, 281ra43 (2015).

56. Trzonkowski, P. *et al.* Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination—an impact of immunosenescence. *Vaccine* **21**, 3826–3836 (2003).

57. Frasca, D., Diaz, A., Romero, M., Landin, A. M. & Blomberg, B. B. Cytomegalovirus (CMV) seropositivity decreases B cell responses to the influenza vaccine. *Vaccine* **33**, 1433–1439 (2015).

58. Derhovanessian, E. *et al.* Cytomegalovirus-associated accumulation of late-differentiated CD4 T-cells correlates with poor humoral response to influenza vaccination. *Vaccine* **31**, 685–690 (2013).

59. Merani, S., Kuchel, G. A., Kleppinger, A. & McElhaney, J. E. Influenza vaccine-mediated protection in older adults: Impact of influenza infection, cytomegalovirus serostatus and vaccine dosage. *Exp. Gerontol.* **107**, 116–125 (2018).

60. Nielsen, C. M. *et al.* Impaired NK Cell Responses to Pertussis and H1N1 Influenza Vaccine Antigens in Human Cytomegalovirus-Infected Individuals. *J. Immunol.* **194**, 4657–4667 (2015).

61. Targonski, P. V., Jacobson, R. M. & Poland, G. A. Immunosenescence: Role and measurement in influenza vaccine response among the elderly. *Vaccine* **25**, 3066–3069 (2007).

62. Kaczorowski, K. J. *et al.* Continuous immunotypes describe human immune variation and predict diverse responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **114**, E6097–E6106 (2017).

63. Derhovanessian, E. *et al.* Lower proportion of naïve peripheral CD8+ T cells and an unopposed pro-inflammatory response to human Cytomegalovirus proteins in vitro are associated with longer survival in very elderly people. *Age* **35**, 1387–1399 (2013).

64. Wills, M. *et al.* Report from the second cytomegalovirus and immunosenescence workshop. *Immun. Ageing A* **8**, 10 (2011).

65. Beck, S. & Barrell, B. G. Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein homologous to MHC class-I antigens. *Nature* **331**, 269–272 (1988).

66. Yu, C. *et al.* Human cytomegalovirus in cancer: the mechanism of HCMV-induced carcinogenesis and its therapeutic potential. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **13**, 1202138 (2023).

67. Cinatl Jr., J., Scholz, M. & Doerr, H. W. Role of tumor cell immune escape mechanisms in cytomegalovirus-mediated oncomodulation. *Med. Res. Rev.* **25**, 167–185 (2005).

68. Luo, X.-H. *et al.* The impact of inflationary cytomegalovirus-specific memory T cells on anti-tumour immune responses in patients with cancer. *Immunology* **155**, 294–308 (2018).

69. Baryawno, N. *et al.* Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target. *J. Clin. Invest.* **121**, 4043–4055 (2011).

70. Cox, M., Kartikasari, A. E. R., Gorry, P. R., Flanagan, K. L. & Plebanski, M. Potential Impact of Human Cytomegalovirus Infection on Immunity to Ovarian Tumours and Cancer Progression. *Biomedicines* **9**, 351 (2021).

71. Lepiller, Q., Aziz Khan, K., Di Martino, V. & Herbein, G. Cytomegalovirus and Tumors: Two Players for One Goal-Immune Escape. *Open Virol. J.* **5**, 60–69 (2011).

72. Herbein, G. The Human Cytomegalovirus, from Oncomodulation to Oncogenesis. *Viruses* **10**, 408 (2018).

73. Michaelis, M., Doerr, H. W. & Cinatl, J. The Story of Human Cytomegalovirus and Cancer: Increasing Evidence and Open Questions. *Neoplasia N. Y. N* **11**, 1–9 (2009).

74. Machin, D., Campbell, M. J., Tan, S. B. & Tan, S. H. Survival Time Outcomes. in *Sample Sizes for Clinical, Laboratory and Epidemiology Studies* 99–116 (John Wiley & Sons, Ltd, 2018). doi:10.1002/9781118874905.ch7.

75. Brunssen, A. *et al.* Long-term relative survival from melanoma in Germany 1997-2013. *Melanoma Res.* **30**, 386–395 (2020).

76. Weinberger, B. *et al.* Healthy Aging and Latent Infection with CMV Lead to Distinct Changes in CD8+ and CD4+ T-Cell Subsets in the Elderly. *Hum. Immunol.* **68**, 86–90 (2007).

77. El Baba, R. & Herbein, G. Immune Landscape of CMV Infection in Cancer Patients: From “Canonical” Diseases Toward Virus-Elicited Oncomodulation. *Front. Immunol.* **12**, (2021).

78. Chen, S. *et al.* Associations of Cytomegalovirus Infection With All-Cause and Cardiovascular Mortality in Multiple Observational Cohort Studies of Older Adults. *J. Infect. Dis.* **223**, 238–246 (2020).

79. Matheï, C. *et al.* No relation between CMV infection and mortality in the oldest old: results from the Belfrail study. *Age Ageing* **44**, 130–135 (2015).

80. Yang, Z. *et al.* Human Cytomegalovirus Seropositivity and Viral DNA in Breast Tumors Are Associated with Poor Patient Prognosis. *Cancers* **14**, 1148 (2022).

81. Foster, H. *et al.* Human cytomegalovirus seropositivity is associated with decreased survival in glioblastoma patients. *Neuro-Oncol. Adv.* **1**, vdz020 (2019).

82. Rashid, S. *et al.* Human Cytomegalovirus (CMV) Infection Associated With Decreased Risk of Bronchogenic Carcinoma: Understanding How a Previous CMV Infection Leads to an Enhanced Immune Response Against Malignancy. *Cureus* **15**, e37265.

83. Nagel, B. *et al.* The Association of Human Cytomegalovirus Infection and Colorectal Cancer: A Clinical Analysis. *World J. Oncol.* **14**, 119–124 (2023).

84. Jankovic, M. *et al.* Human Cytomegalovirus Oncoprotection across Diverse Populations, Tumor Histologies, and Age Groups: The Relevance for Prospective Vaccinal Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **25**, 3741 (2024).

85. Wilski, N. A. & Snyder, C. M. From Vaccine Vector to Oncomodulation: Understanding the Complex Interplay between CMV and Cancer. *Vaccines* **7**, 62 (2019).

86. Krenzlin, H. *et al.* Cytomegalovirus promotes murine glioblastoma growth via pericyte recruitment and angiogenesis. *J. Clin. Invest.* **129**, 1671–1683 (2019).

87. Yang, Z. *et al.* Latent Cytomegalovirus Infection in Female Mice Increases Breast Cancer Metastasis. *Cancers* **11**, 447 (2019).

88. Postow, M. A. *et al.* Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N. Engl. J. Med.* **372**, 2006–2017 (2015).

89. Larkin, J. *et al.* Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **373**, 23–34 (2015).

90. Schonfeld, S. J. *et al.* Immune-Related Adverse Events After Immune Checkpoint Inhibitors for Melanoma Among Older Adults. *JAMA Netw. Open* **5**, e223461 (2022).

91. Zuhair, M. *et al.* Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Rev. Med. Virol.* **29**, e2034 (2019).

92. Lachmann, R. *et al.* Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in the adult population of Germany. *PloS One* **13**, e0200267 (2018).

93. Schwartz, M. R., Luo, L. & Berwick, M. Sex Differences in Melanoma. *Curr. Epidemiol. Rep.* **6**, 112–118 (2019).

94. Buja, A. *et al.* Sex Differences in Cutaneous Melanoma: Incidence, Clinicopathological Profile, Survival, and Costs. *J. Womens Health* **31**, 1012–1019 (2022).

95. Ortiz Brugués, A. *et al.* RESCUE STUDY – International Survey on training of Dermatology Residents in Supportive Oncodermatology. *EJC Skin Cancer* **2**, 100166 (2024).

96. Joosse, A. *et al.* Sex Is an Independent Prognostic Indicator for Survival and Relapse/Progression-Free Survival in Metastasized Stage III to IV Melanoma: A Pooled Analysis of Five European Organisation for Research and Treatment of Cancer Randomized Controlled Trials. *J. Clin. Oncol.* **31**, 2337–2346 (2013).

97. Smith, A. J., Lambert, P. C. & Rutherford, M. J. Understanding the impact of sex and stage differences on melanoma cancer patient survival: a SEER-based study. *Br. J. Cancer* **124**, 671–677 (2021).

98. Joosse, A. *et al.* Gender differences in melanoma survival: female patients have a decreased risk of metastasis. *J. Invest. Dermatol.* **131**, 719–726 (2011).

99. Joosse, A. *et al.* Reactive oxygen species and melanoma: an explanation for gender differences in survival? *Pigment Cell Melanoma Res.* **23**, 352–364 (2010).

100. Field, S. & Newton-Bishop, J. A. Melanoma and vitamin D. *Mol. Oncol.* **5**, 197–214 (2011).

101. Wierzbicka, A. & Oczkowicz, M. Sex differences in vitamin D metabolism, serum levels and action. *Br. J. Nutr.* **128**, 2115–2130 (2022).

102. Morvillo, V. *et al.* Androgen receptors in human melanoma cell lines IIB-MEL-LES and IIB-MEL-IAN and in human melanoma metastases. *Melanoma Res.* **12**, 529–538 (2002).

103. Joosse, A. *et al.* Sex Is an Independent Prognostic Indicator for Survival and Relapse/Progression-Free Survival in Metastasized Stage III to IV Melanoma: A Pooled Analysis of Five European Organisation for Research and Treatment of Cancer Randomized Controlled Trials. *J. Clin. Oncol.* **31**, 2337–2346 (2013).

104. ANTONA, D. *et al.* Seroprevalence of cytomegalovirus infection in France in 2010. *Epidemiol. Infect.* **145**, 1471–1478 (2017).

105. Dana Flanders, W., Lally, C., Dilley, A. & Diaz-Decaro, J. Estimated cytomegalovirus seroprevalence in the general population of the United States and Canada. *J. Med. Virol.* **96**, e29525 (2024).

106. Stadler, L. P. *et al.* Seroprevalence and Risk Factors for Cytomegalovirus (CMV) Infections in Adolescent Males. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **51**, e76–e81 (2010).

107. Balch, C. M. *et al.* Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 6199–6206 (2009).

108. Chan, P. Y. & Corrie, P. G. Curing Stage IV Melanoma: Where Have We Been and Where Are We? *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book* **44**, e438654 (2024).

109. Ascierto, P. A. *et al.* Sequencing of Ipilimumab Plus Nivolumab and Encorafenib Plus Binimetinib for Untreated BRAF-Mutated Metastatic Melanoma (SECOMBIT): A Randomized, Three-Arm, Open-Label Phase II Trial. *J. Clin. Oncol.* **41**, 212–221 (2023).

110. Safaee Ardekani, G., Jafarnejad, S. M., Tan, L., Saeedi, A. & Li, G. The Prognostic Value of BRAF Mutation in Colorectal Cancer and Melanoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* **7**, e47054 (2012).

111. Gershenwald, J. E. & Scolyer, R. A. Melanoma Staging: American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th Edition and Beyond. *Ann. Surg. Oncol.* **25**, 2105–2110 (2018).

112. Barricklow, Z., DiVincenzo, M. J., Angell, C. D. & Carson, W. E. Ulcerated Cutaneous Melanoma: A Review of the Clinical, Histologic, and Molecular Features Associated with a Clinically Aggressive Histologic Phenotype. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **15**, 1743–1757 (2022).

113. Winnepenninckx, V. *et al.* Gene Expression Profiling of Primary Cutaneous Melanoma and Clinical Outcome. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **98**, 472–482 (2006).

114. in ’t Hout, F. E. M. *et al.* Prognostic Importance of the Extent of Ulceration in Patients With Clinically Localized Cutaneous Melanoma. *Ann. Surg.* **255**, 1165 (2012).

7.) Erklärung zum Eigenanteil

Diese Arbeit wurde am Uniklinikum Tübingen in der Abteilung Hautklinik der Sektion Dermatologische Onkologie unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. Lukas Flatz durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Lukas Flatz und Herrn Dr. Vincent Walter.

Die Einholung des Ethikvotums und die Korrektur der Ausarbeitung erfolgten durch Herrn Dr. Vincent Walter.

Die Fallzahlplanung erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Vincent Walter.

Die Datenrecherche und Datenauswertung erfolgten durch mich.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Herrn Prof. Dr. Lukas Flatz verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 05.10.2024 Amandi Narasinghe

8.) Danksagung

Ich danke zuerst Herrn Prof. Dr. Lukas Flatz für die äußerst zuverlässige Betreuung und die hilfreichen Anregungen für die Erstellung dieser Arbeit. Des Weiteren gebührt ihm auch mein Dank für die Überlassung des spannenden Themas und die Möglichkeit der Nutzung der Räumlichkeiten der AG Flatz.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. Vincent Walter für die stetige, kompetente Unterstützung meiner Doktorarbeit. Ohne seine Hilfe, Motivation und konstruktive Kritik hätte diese Arbeit nicht entstehen können.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Herrn Mustafa Kilic aus der AG Flatz für das Korrekturlesen bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt insbesondere meiner Familie für die bedingungslose Unterstützung in all meinen Lebensphasen. Ohne eure Kraft wäre dieser Weg nicht bestreitbar gewesen.

Zu guter Letzt danke ich all denen, die mich in meinem Werdegang in jeglicher Hinsicht begleitet, gelehrt und geprägt haben.