

**Department für Frauengesundheit
Universitäts-Frauenklinik Tübingen**

**Die Sentinel-Lymphknotendetektion im Rahmen der
operativen Primärbehandlung des Mammakarzinoms**

**Nuklearmedizinisches Verfahren und Fluoreszenztechnik im
intraindividuellen Vergleich**

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

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

vorgelegt von

Carmen Mewald-Röhm

2019

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Professorin Dr. E.- M. Grischke
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Handgretinger

Tag der Disputation: 11.09.2020

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	2
1.1.	Entwicklung und Aussagewert der Sentinel-Lymphknoten-Detektion (SLN-Detektion) bei malignen Tumoren.....	3
1.2.	Entwicklung und Aussagewert der SLN-Detektion beim Mamma-karzinom	6
1.2.1.	Prinzip und Stellenwert der blauen Farbstoffmethode	6
1.2.2.	Prinzip und Stellenwert der Radiokolloid Szintigraphie	8
1.2.3.	Prinzip und Stellenwert des Fluoreszenzverfahrens	9
1.2.4.	Rationale für den Einsatz der Fluoreszenzmethode beim Mamma-karzinom	9
1.2.5.	Die Bedeutung der SLNB für die operative Primärbehandlung des Mammakarzinoms	11
1.2.6.	Technik der Sentinel-Lymphknotendetektion mittels Radionuklid-Methode beim Mammakarzinom	13
1.2.7.	Technik der SLN-Detektion mittels Fluoreszenz beim Mammakarzinom	14
1.2.8.	Histopathologische Aufarbeitung des SLN.....	16
1.3.	Fragestellung der Arbeit	17
2.	Patienten und Methodik.....	19
2.1.	Einschlusskriterien – Rekrutierung der Patientinnen	19
2.2.	Ausschlusskriterien.....	22
2.3.	Angewandte Untersuchungstechniken zur SLN Detektion	24
2.4.	Patientinnen.....	24
2.5.	Zielparameter.....	26
2.6.	Durchführung der Sentinel-Lymphknoten-Detektion mittels Radionuklid-Methode	27
2.7.	Praktische Durchführung des Fluoreszenzverfahrens mittels ICG-Pulsion	30
2.8.	Dokumentation der intraoperativen SLN Detektion	34
2.9.	Gezielte histologische Aufarbeitung der einzelnen entfernten SLN	36
2.10.	Erstellung einer Arbeitsanleitung für die praktische Durchführung entsprechend einer Lernkurve.....	36
2.11.	Erfassung der Arzneimittelsicherheit (Pharmakovigilanz)	37
3.	Ergebnisse.....	39
3.1.	Tumorstadien.....	39
3.2.	SLN-Detektion auf Patientinnen bezogen (Möglichkeit der Detektion von SLN pro Patientin).....	39
3.3.	SLN-Detektionsrate bezogen auf die Gesamtzahl exstirpierter Lymphknoten in Abhängigkeit der angewandten Methode.....	42
3.4.	Analyse der mit ICG fehlenden Detektion im Vergleich zu Detektion mit Tc in Abhängigkeit des Body Maß Index (BMI)	43
3.5.	Detektionsraten bei histopathologischem Tumorbefall der SLN	45
3.6.	Übersicht über die erfassten Detektionsraten	46
3.7.	Erfassung der Arzneimittelsicherheit	47
4.	Diskussion	48
5.	Abschließende Beurteilung des ICG Verfahrens.....	53
6.	Stellenwert der Fluoreszenztechnik und kritische Beurteilung	56
7.	Zusammenfassung	58
8.	Literaturverzeichnis	60
9.	Abbildungsverzeichnis.....	65
10.	Tabellenverzeichnis	66
11.	Abkürzungsverzeichnis.....	67
12.	Anlagen.....	68
14.	Erklärung zum Eigenanteil.....	90
15.	Danksagung.....	91
16.	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

1. Einleitung

Diagnose und Therapie, insbesondere des frühen Mammakarzinoms, konnten in den letzten Jahrzehnten wesentlich durch Einsatz intensivierter Diagnostik und Früherkennung verbessert werden, z. B. im Rahmen des Mammographie-screenings. Aber auch eine kontinuierliche Verbesserung der diagnostischen Aussagefähigkeit von Mammographie-Einheiten und der Mamma-Ultraschall-Geräte haben dazu beigetragen. Ein weiterer entscheidender Schritt bei der Entwicklung der Therapiekonzepte für das Mammakarzinom waren wegweisende Erkenntnisse über die Biologie der Tumore. Wichtige Faktoren, die von therapeutischer Relevanz sind und waren, sind der Lymphknotenstatus, das Grading, aber auch Informationen über Gensignaturen bzw. Risiko-prädiktionsmodelle [(Fasching et al. 2013), (Heywang-Koebrunner et al. 2013), (Lux et al. 2013), (Sinn et al. 2013)]. Ein wesentlicher Schritt bei der Reduktion der Radikalität im operativen Vorgehen war der Wandel von der radikalen Mastektomie, nach Rotter-Halsted, bis hin zur einfachen Segmentresektion bzw. Lumpektomie.

Gleichermaßen hat sich die operative Radikalität der Axilla von der kompletten axillären Lymphonodektomie (Level I–III) auf die Sentinel-Lymphknoten-Entfernung (SLNB) reduziert [Benson, Querci Della Rovere 2007), (Kühn et al. 2003)]. Damit ist die SLNB der erste Schritt zu einer weiteren Reduktion der operativen Radikalität mit Reduktion der Sekundärmorbidität wie Schmerzempfindungen im Armbereich, eingeschränkte Sensibilität und Lymphödem. Unter den diagnostischen Verfahren zur Markierung des Sentinel-Lymphknotens (SLN) ist die Methode mit der höchsten Validität und auch historisch in erster Linie eingesetzt, die Szintigraphie mit Technetium als Radionuklid. In zweiter Linie wurde die blaue Farbstoffmethode (Blue dye Methode), allerdings mit geringen Detektionsraten, eingesetzt [(Cody et al. 2001)]. Da die szintigraphischen Methoden mit einem erhöhten Aufwand und Kosten verbunden sind und auch einer – wenn auch geringen – Strahlenbelastung für Patientinnen und Personal, sind weitere Detektionsverfahren zur Erkennung des Sentinels von großem Interesse.

Eine weitere mögliche Methode ist die Fluoreszenz-Methode, wobei aktuell in erster Linie als Fluoreszenz-Farbstoff Indocyaningrün (ICG) der Firma Pulsion® zur Verfügung steht.

Zur optimierten Darstellung mit höchster Sensitivität und Spezifität wird in der klinischen Routine aktuell die nuklearmedizinische Methode in Kombination mit der blauen Farbstoffmethode eingesetzt. Bestrebungen, aus den genannten Gründen auf Radioaktivität zu verzichten führten zur Suche nach einer Technik mit hoher Sensitivität, Spezifität und einfacher Handhabung mit überschaubarer Lernkurve.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb neben dem Standardverfahren Technetium anstelle der blauen Farbstoffmethode das Fluoreszenzverfahren mit ICG eingesetzt werden, um im intraindividuellen Vergleich die Aussagefähigkeit von Fluoreszenzmethode zum Golden Standard mit Technetium markierte Kolloide zu überprüfen. Im Blickpunkt stehen dabei die Detektionsraten, die Validität der Methode und die Markierungsrate von tumorfreien, aber auch befallenen Lymphknoten. Gleichzeitig war es die Aufgabe der Arbeit, die Toxizitäten von ICG bei intradermaler bzw. subkutaner Applikationsform zu erfassen, da der Fluoreszenzfarbstoff bislang nur für die i.v. Applikation eine Zulassung besitzt.

Eine Toxizitätsüberprüfung erfolgte deshalb zur Erfassung potentieller lokaler Reaktionen, wie Hautirritation und anhaltende Hauttätowierung, aber auch zur Erfassung der systemischen Verträglichkeit und zum Ausschluss potentieller Organtoxizitäten im Sinne der Pharmakovigilanz.

Die Beantwortung der diversen Fragestellungen erfolgte im Rahmen einer monozentrischen prospektiven Phase-II-Studie.

1.1. Entwicklung und Aussagewert der Sentinel-Lymphknoten-Detektion (SLN-Detektion) bei malignen Tumoren

Die Geschichte bzw. Entwicklung der Sentinel-Lymphknoten-Detektion zeigt sich in erster Linie beim Mammakarzinom und malignen Melanom. Während erste Versuche den Lymphabfluss des Mammakarzinoms darzustellen mittels Lymphographie erfolgten, wurde die Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB) als

Methode zum Aufsuchen des Sentinel-Lymphknotens bzw. Wächter-Lymphknotens (SLN) bei Tumorerkrankungen erstmals von Gould 1960 bei Malignomen der Parotis [(Gould 1960)] beschrieben.

Im Rahmen von radikalen Neck-Dissections wurde bei malignen Erkrankungen der Glandula parotis zunächst der SLN aufgesucht und detektiert. Im Weiteren wurden seit 1992 die Sentinel-Node-Detektion im Rahmen der Therapie des malignen Melanoms eingesetzt [(Morton et al. 1992), (Motomura et al. 1999)]. Mittels Farbstoffmarkierung konnte dabei in 82 % der SLN bereits detektiert werden. Die falsch-negativ-Rate betrug hierbei 1 %. In der Folge konnte die Farbstoffmethode weiter etabliert werden, zunächst beim malignen Melanom und später für das Mammakarzinom mit Detektionsraten von 65,5 %. Untersucht wurden hier 174 Mammakarzinom-Patientinnen [(Giuliano et al. 1994), (Morton et al. 1992)].

Die Radionuklid-Methode mit Einsatz der Gammasonde Neoprobe GDS (Gamma Detection System 2017, Devicor Medical Products, Inc. Part of Leica Biosystems) fand zur Detektion des Mammakarzinoms intraoperativ erstmalig Anwendung bei Krag et al. [(Krag et al. 1993)]

Eine weitere Entwicklung bestand darin, dass bei fehlendem Tumornachweis im Sentinel-Lymphknoten auf eine erneute axilläre Dissektion verzichtet werden konnte [(Krag et al. 2010)]. Wesentliche Voraussetzungen waren dafür die sehr guten Detektionsraten, welche von 100-86 % reichten, bei einer falsch-negativ-Rate von 3,7-9,1 % [(Krag et al. 1998), (McMasters et al. 2000), (Rubio et al. 1998), (Veronesi et al. 2003)]. Dabei konnten Sensitivitätsraten von 88,2-91,2 % erreicht werden. Eine Übersicht über die verschiedenen Detektionsraten, die Falsch-negativ-Rate, aber auch die Sensitivität der einzelnen Autoren ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tab. 1: Detektionsraten bei Mammakarzinom mittels Radionuklid-Methode

Autoren	Sensitivität	Detektionsrate	Falsch-negativ-Rate
Krag et al. 1998	88,6 %	n.a.	n.a.
Rubio et al. 1998	88,2 %	96,2 %	3,7 %
Veronesi et al. 2003	91,2 %	100 %	8,8 %
McMaster et al. 2000	89,1 %	86 %	9,1 %

1.2. Entwicklung und Aussagewert der SLN-Detektion beim Mamma-karzinom

1.2.1. Prinzip und Stellenwert der blauen Farbstoffmethode

Unter den bislang eingesetzten Methoden sind die Farbstoffmethode, auch bezeichnet als „Blue Dye“-Technik, und die Radionuklid-Methode bekannt sowie etabliert. Bei der Farbstoffmethode, insbesondere favorisiert durch Giuliano, wird intraoperativ eine peritumorale Farbstoffinjektion in der Regel mit Patentblau durchgeführt und die ersten blau gefärbten Lymphknoten wenige Minuten nach Injektion detektiert [(Giuliano et al. 1994), (Reyes et al. 2010)]. Es erfolgt eine selektive Entnahme gemäß Markierung des ersten angefärbten Lymphknotens und die separate histopathologische Untersuchung. Zuführende Lymphbahnen sind in der Regel dabei nicht zu erkennen. Vorteile der blauen Farbstoffmethode im Vergleich zum Radionuklidverfahren sind ein geringerer logistischer, zeitlicher und finanzieller Aufwand. Nachteile stellen allerdings ein geringeres Zeitfenster von der Injektion bis zur Detektion dar, eine häufig nicht gute Sichtbarkeit der Lymphbahnen und des Lymphknotens bei adipösen Patientinnen sowie insbesondere zur szintigraphischen Methode eine geringere Detektionsrate. Weitere Nachteile sind potentielle Nebenwirkungen, wie allergische Hautreaktionen bis hin zu anaphylaktischen generalisierten Schock-, aber auch Hautreaktionen wie eine lang anhaltende Pigmentierung der Haut bis zur Hautnekrose [(Bleicher et al. 2009), (Jaffer et al. 2008), (Masannat et al. 2006), (Wenig et al. 2007)].



Abb. 1: Blaufärbung der Haut

In der Regel erfolgt die Farbstoffinjektion, d. h. die Patentblauinjektion subkutan bzw. intradermal periareolär. Nicht selten gibt es eine Blaufärbung der Haut, die auch noch über längere Zeit persistieren kann (Abb. 1).

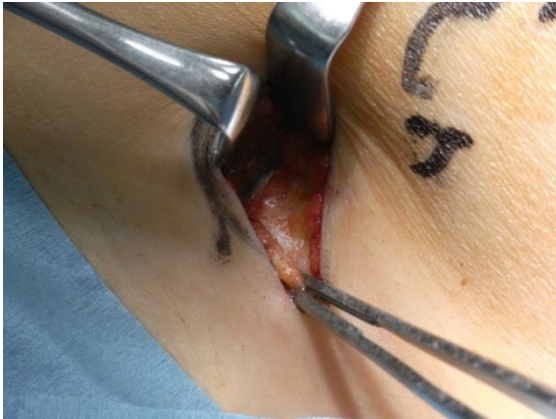


Abb. 2: Aufsuchen des Lymphknotens im Fettgewebe

Es erfolgt eine selektive Entnahme gemäß Markierung, wobei die Hautinzision in der Regel an typischer Stelle erfolgen muss. Eine Möglichkeit zur Vorabdetektion gibt es nicht, deshalb wird die Hautinzision im Bereich der vorderen Axillarlinie durchgeführt und in der Folge der Lymphknoten im Fettgewebe aufgesucht (Abb. 2).



Abb. 3: Selektive Entnahme des blau gefärbten Lymphknotens

Es erfolgt eine selektive Entnahme gemäß Markierung des blau markierten Lymphknotens bzw. der blau markierten Lymphknotengruppe und eine Weiterleitung zur histopathologischen Untersuchung (Abb. 3).

1.2.2. Prinzip und Stellenwert der Radiokolloid-Szintigraphie

Bei der Radionuklid-Szintigraphie erfolgt eine präoperative periareoläre bzw. peritumorale Injektion des Radiokolloids und die Erstellung eines präoperativen Lymphszintigramms (lymphatic mapping). Die Injektion erfolgt in der Regel am Vortag bzw. am Morgen der operativen Intervention, mit entsprechender protokollmäßig festgelegter Dosierung. Nach intraoperativem Aufsuchen des radiokolloidspeichernden Lymphknotens mit der Gammasonde erfolgt die selektive Entnahme des speichernden SLN bzw. der Sentinelgruppe. In der Folge sollte der Situs auf Restaktivität untersucht werden.

Entsprechende objektivierbare Parameter können dabei erfasst werden, wie die Menge an aufgenommenem Tracer in den Lymphknoten in Form von counts per minute. Das Aufsuchen des Lymphknotens kann durch die präoperative Lymphszintigraphie noch erleichtert werden. Eine fehlende Darstellbarkeit des SLN in der Lymphszintigraphie kann ein korrektes intraoperatives Vorgehen bestätigen und Verunsicherungen vermeiden, wenn intraoperativ kein Signal mit der Gammasonde erzielt werden kann.

Als Methode mit der höchsten Detektionsrate und Validität stehen hier im Gegensatz ein erhöhter Kostenaufwand bezüglich Geräteanschaffung, die zunehmend schwierige Zurverfügungstellung von Radiokolloid und die Strahlenbelastung von Personal und Patientin. Auch wenn diese gering ist, kann die erforderliche Einhaltung einer Zeitschiene zur optimalen Detektion einen limitierenden Faktor darstellen. Die Verfahrensweisung für die technische Durchführung der nuklearmedizinischen Lymphknotendiagnostik durch die Deutsche Gesellschaft für Nuklearmedizin aus dem Jahr 2014 beschreibt für die einzelnen Tumorentitäten die erforderlichen Injektionsarten, die erforderliche Gesamtaktivität in MBq und das entsprechende Volumen, welches verabreicht werden soll [(Bold 2005), (Heidenreich et al. 2001), (Kühn et al. 2003), (Lyman et al. 2005), (Schmidt et al. 2014)]. Die einzelnen Tumorentitäten beinhalten z. B. das Melanom und andere Hauttumore sowie Karzinome für Kopf-Hals-Tumore, das Prostatakarzinom und Penis- und Vulva-Karzinom.

1.2.3. Prinzip und Stellenwert des Fluoreszenzverfahrens

Unter Berücksichtigung der Vor- und Nachteile der etablierten Methoden, wie blaue Farbstoffmethode und Radionuklid-Verfahren, wurden neue Ansätze für die SLNB gesucht. Dabei konnte mit dem Fluoreszenzverfahren ein neues Verfahren gefunden werden [(Marshall et al. 2010), (Rangioni 2003), (Rasmussen et al. 2010)].

Zum Einsatz kommt dabei eine Kamera, die mittels eines UV-Filters (835 nm) die einfallende NIR-Strahlung (Near infrared-Fluoreszenz) sammelt und dabei filtert. Nach Injektion, die in der Regel intradermal oder subkutan erfolgt und einem entsprechenden Zeitintervall, kann der lymphatische Transport via Lymphbahn visualisiert und der Lymphknoten entsprechend dargestellt werden [(Kwon, Sevick-Muraca 2010), (Kwon, Sevick-Muraca 2007), (Kwon et al. 2013)]. Untersuchungen liegen dazu bereits für das Magenkarzinom, für kolorektale Tumore, das Melanom und auch zunehmend für das Mammakarzinom vor [(Hirche et al. 2010), (Hühnerbein et al. 2001), (Kwon et al. 2013)]. In der Augenheilkunde wird eine Fluoreszenzdarstellung in Form einer Fluoreszenzangiographie bereits nahezu standardmäßig bei retinalen Perfusionsstörungen und Gefäßanomalien eingesetzt. Deshalb besteht für die Anwendung des Fluoreszenzfarbstoffes ICG aktuell auch ausschließlich eine Zulassung für die intravenöse Injektion [(Bäumler et al. 2006)].

1.2.4. Rationale für den Einsatz der Fluoreszenzmethode beim Mammakarzinom

Unter Berücksichtigung der jeweiligen Vor- und Nachteile der beiden etablierten Methoden zur SLN-Detektion stellt ein weiteres Verfahren in jedem Fall eine sinnvolle und wichtige Ergänzung dar. Insbesondere bestätigt auch die Tatsache, dass die blaue Farbstoffmethode für diese spezielle Indikation nicht zugelassen ist, die Suche nach weiteren Detektionsmethoden. Dabei erweist sich der Einsatz eines Fluoreszenz-Farbstoffes, in Form von ICG, zur fluoreszenzgeführten Navigation, als Methode mit fehlender Strahlenbelastung und guter Darstellbarkeit der entsprechenden Lymphbahnen, als neue alternative Methode (Abb. 4).

Deshalb ist es das Ziel der vorliegenden Arbeit, das Fluoreszenzverfahren für die SLN-Detektion beim Mammakarzinom zu untersuchen.

Arbeiten bzw. Daten finden sich zum Mammakarzinom mit erstmals kleinen, dann auch größeren Zahlen bis zum Jahre 2005 und 2009 zurückreichend [(ICH Topic E9 1998), (Kitai et al. 2005), Troyan et al. 2009)]. Erfahrungen liegen hier allerdings nicht nur zum Mammakarzinom vor, sondern auch zu gastrointestinalen Tumoren (Magenkarzinom aber auch kolorektale Karzinome), Tumoren der Haut und auch vereinzelt zu Tumoren der Lunge.

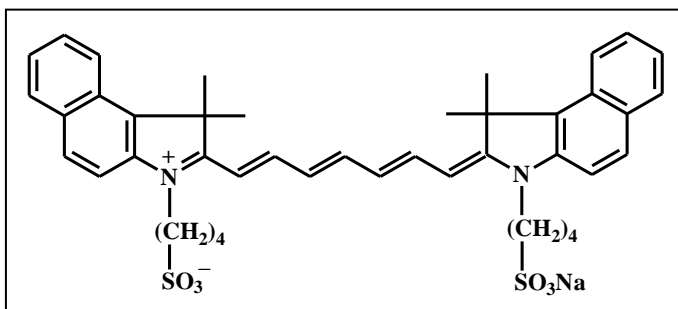


Abb. 4: Beschreibung des Fluoreszenzfarbstoffes ICG Indocyanin-Grün - Chemische Struktur mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

Die Methode der Nahen-IR-Spektroskopie ermöglicht eine nicht-invasive Detektion des Farbstoffs, unter Verwendung von Absorptionmessungen oder Fluoreszenzbildgebungstechniken (Abb. 5, 6). Die Abbildungen wurden mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems zur Verfügung gestellt und sind Bestandteil des Studien-Prüfplanes.

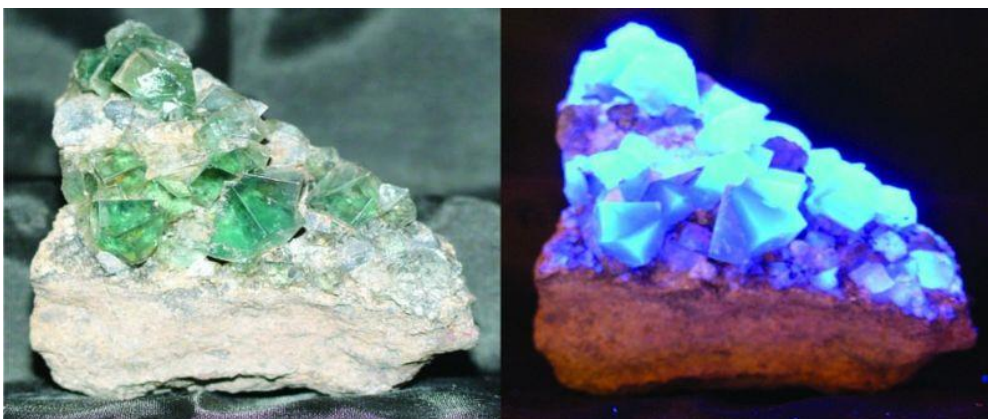


Abb. 5: Mechanismus der Fluoreszenz-Stimulation-Fluoreszenz (Atom, Molekül) –Energiefreisetzung mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

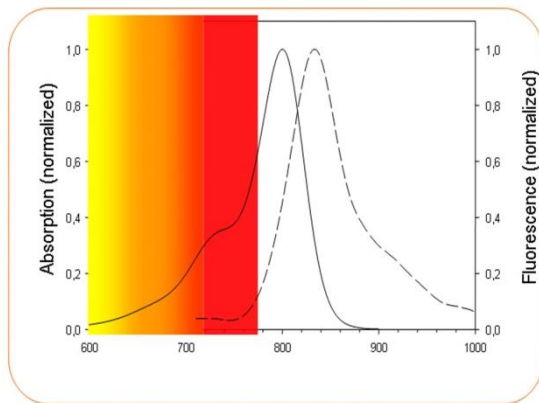


Abb. 6: Sowohl Absorptions- als auch Fluoreszenz-Maximum von ICG liegen im nahen Spektralbereich (Absorptionsmaximum bei 800 nm, das Emissionsmaximum für Fluoreszenzmessungen bei 830 nm) mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

Die Abbildung 6 zeigt die Grundlagen der Fluoreszenz und ihren Vergleich zu üblichem Gewebe sowie die verschiedenen Absorptionsspektren des zur Fluoreszenz eingesetzten Indocyaningrün (ICG-Pulsion®) mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems als Bestandteil des Prüfplanes der Studie (Materialien zur Studie). Absorptions- und Emissionsmaximum von Indocyaningrün (ICG) liegen beide im nahen Infrarotbereich, das Absorptionsmaximum bei 800 nm, und das Emissionsmaximum für Fluoreszenzmessungen bei 830 nm. Die Abbildung wurde mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems zur Verfügung gestellt und ist Bestandteil des Studien-Prüfplanes.

1.2.5. Die Bedeutung der SLNB für die operative Primärbehandlung des Mammakarzinoms

Um die SLNB als Routineverfahren im Rahmen der operativen Therapie des Mammakarzinoms implementieren zu können, wurde erstmals 2003 interdisziplinär ein entsprechend abgestimmter Konsensusbeschluss zur qualitätsgesicherten Detektion des SLNB beim Mammakarzinom erarbeitet [(Kühn et al. 2003)]. Die Ausführungen beinhalten Voraussetzungen für die Durchführung der SLNB u.a. Vorgaben zu technischen und personellen Anforderungen (Struktur/Qualität), zusätzlich eine Auflistung des entsprechenden Indikationspektrums, die dazu erforderliche Dokumentation, Patientenaufklärung und Nachbeobachtung.

Dabei wurde der SLN definiert als der Lymphknoten bzw. die Lymphknotengruppe, welche durch Farbstoff oder auch Radionuklid markiert werden können, bei denen eine zuführende Lymphbahn identifiziert werden kann und der die entsprechende Markierungssubstanzen aufnimmt. Unter „lymphatic mapping“ versteht man dabei die Darstellung des funktionellen Lymphabstromes aus Mamma- bzw. der entsprechenden Tumorregion.

Gemäß dem erarbeiteten Konsensus wurde zur qualitätsgesicherten Durchführung der SLNB eine standardisierte und reproduzierbare technische Vorgehensweise und eine definierte histopathologische Aufarbeitung des SLN für eine Sicherung der Ergebnisqualität gefordert. Da nur der Einsatz von radioaktiven Tracern eine objektivierbare Methode darstellt, war die Durchführung des SLNB unter Verwendung von Radioisotopen gefordert. Der Gebrauch von Farbstofflösungen (blaue Farbstoffmethode) stellte eine sinnvolle additive Maßnahme dar, wurde jedoch zum Zeitpunkt der Implementierung der Methode und auch in der Folge nicht als einzige, ausschließlich einzusetzende Standardmethode analog des Technetiumverfahrens empfohlen (Abb. 7). Zur Umsetzung des Konzeptes und um die entsprechende Interdisziplinarität garantieren zu können, ist eine Kooperation zwischen Brustoperateuren, Nuklearmedizinern und Pathologen sowie die Möglichkeit der Applikation radioaktiv markierter Tracer und die Möglichkeit der Lymphszintigraphie erforderlich.

Die technischen Voraussetzungen dafür sind eine nuklearmedizinische Einrichtung für die präoperative Technetium-Markierung, die Existenz einer Gammasonde für die intraoperative SLN-Detektion, die protokollgerechte pathologische Aufarbeitung (u.a. bei Vorliegen von lobulären invasiven Mammakarzinomen) sowie die Möglichkeit protokollgerechter Dokumentation und Auswertung der Daten. Um eine gewisse Lernphase bzw. Lernkurve nachweisen zu können, ist ein entsprechendes Training der Operateure erforderlich [(Dupont et al. 2001)]. Ein Blick auf die Indikationen zeigt, dass bei primär sehr eng gewählter Indikation für die Technik der SLNB mittlerweile das Fenster doch deutlich geöffnet wurde. Dabei wurde zunächst nur bei Mammakarzinomen bis 2 cm Größe mit klinisch negativem Nodalstatus eine

Indikation zur SLNB dargestellt. Mittlerweile stellen nur noch klinisch stanzbioptisch oder durch Feinnadelbiopsie nachgewiesene auffällige Lymphknoten bzw. der bildmorphologische Verdacht auf einen axillären Lymphknotenbefall eine Kontraindikation dar.

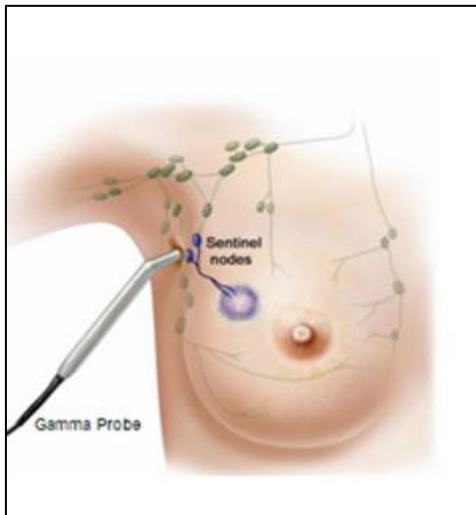


Abb. 7: Schematische Darstellung einer Kombination von Blau- und Technetium-Methode zur SLN Detektion (mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems) als Bestandteil des Prüfplans

1.2.6. Technik der Sentinel-Lymphknotendetektion mittels Radionuklid-Methode beim Mammakarzinom

Zur Detektion des SLN beim Mammakarzinom wird ein Protein in Nanokolloidform als radioaktives Technetium [Tc-99m] peritumoral oder auch periareolär, subdermal oder intrakutan appliziert. Bei [Tc-99m]-Nanocoll® handelt es sich um ein Kolloid mit einer Teilchengröße von 20–100 nm und einem Volumen von 0,2–1,0 ml. Das markierte Kolloid verbreitet sich über die Lymphabflusswege des Tumorgewebes und reichert sich in einem oder mehreren Lymphknoten der Sentinelgruppe an. Definitionsgemäß wird nur der erste Lymphknoten der Lymphknotengruppe als SLN bezeichnet. Die Anreicherung wird zunächst durch ein Lymphszintigramm und intraoperativ durch Einsatz einer Mess-Sonde (Gammasonde) dargestellt. Deshalb variiert die Zahl der markierten Lymphknoten intraindividuell. Zu berücksichtigen ist dabei, dass die Halbwertszeit von [Tc-99m] im Mittel 6 Stunden beträgt.

Für die weitere Planung müssen Radioaktivität und das Zeitintervall zwischen Injektion und Anfertigung der Lymphszintigraphie sowie der Start des operativen Vorgehens berücksichtigt werden. Die einzusetzenden Gammasonden weisen eine Nachweisempfindlichkeit über 5 cps/kBq/auf.

Daraus ergibt sich eine Aktivität von 150-250 MBq. Die blaue Farbstoffmethodik, die als additives Verfahren zur Szintigraphie häufig eingesetzt wird, fand in der vorliegenden Studie keinen Einsatz unter dem Aspekt, dass es bei zwei zum Einsatz kommenden Farbstoffmethoden möglicherweise zu Interaktionen kommen kann.

1.2.7. Technik der SLN-Detektion mittels Fluoreszenz beim Mammakarzinom

Zur Darstellung von Lymphknoten und Lymphbahnen, insbesondere im Rahmen der Lymphödemchirurgie, stellt das Fluoreszenzverfahren bereits eine wichtige Methode dar. Nicht zuletzt ist dabei das Postmastektomie-Lymphödem eine wichtige Indikation, sodass für die Therapie des Mammakarzinoms und potentielle Spätfolgen bereits Erfahrungen mit dem Fluoreszenzfarbstoff vorliegen [(Furukawa et al. 2011)]. Primär konnte zunächst die Darstellbarkeit des SLN an kleinen Fallzahlen überprüft und das technische Vorgehen etabliert werden [(Abe et al 2011), (Abe et al. 2010), (Abels et al. 2000), (Aoyama et al. 2011), (Hirche et al 2010), (Hirche et al. 2010), (Motomura et al. 1999)].

Mit der Fluoreszenzmethode in Form einer Injektion des fluoreszierenden Farbstoffes ICG (ICG-Pulsion)[®] und Einsatz der Infrarotkamera Photo Dynamic Eye (PDE[®], Hamamatsu) können dabei zuführende Lymphbahnen und der SLN in einer Tiefe bis max. 1,5-2 cm ausgehend von der Oberfläche detektiert werden (Abb. 8). Die Abbildung wurde mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems zur Verfügung gestellt und ist Bestandteil des Studien-Prüfplanes.

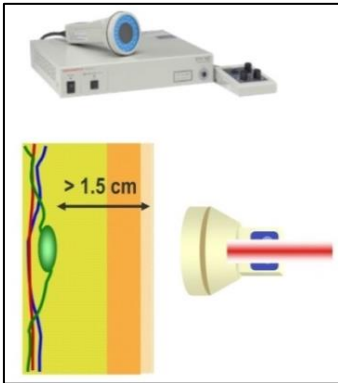


Abb. 8: Wirkprinzip der Fluoreszenzmethode – dargestellt ist die Infrarotkamera Photo Dynamic Eye® (Hamamatsu) wie sie in der Studie eingesetzt wurde sowie die schematische Detektion der Fluoreszenz bis zu einem Tiefendurchmesser von 1,5 cm mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

Nach Injektion des Farbstoffes und der Verfolgung der Lymphbahnen (in der Regel eine führende Lymphbahn) kann an der Stelle des Abbruches der Fluoreszenz der SLN vermutet und die entsprechende Hautinzisionsstelle markiert werden (Abb. 9, 10). Die Abbildungen wurden mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems zur Verfügung gestellt und sind Bestandteil des Studien-Prüfplanes. Nach Inzision der Haut kann mit Hilfe der Kamera der entsprechende SLN bzw. die Sentinel-Gruppe aufgesucht werden [(Takeuchi et al. 2012)].

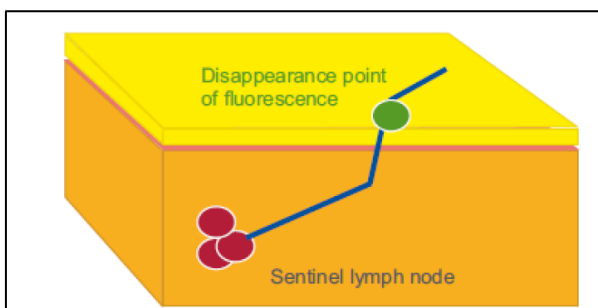


Abb. 9: Vorgehensweise zum Aufsuchen des SLN , Abbruch der darstellbaren Fluoreszenz im Hautniveau mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

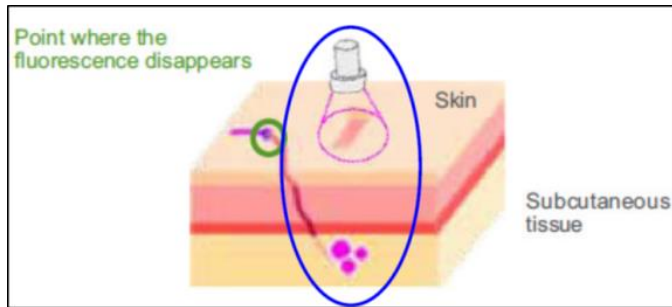


Abb. 10: Schematische Darstellung des Abbruchs der Fluoreszenz bzw. der mittels Fluoreszenz dargestellter Lymphbahn sowie des nachgeordneten Lymphknotens als geeignete Hautinzisionsstelle mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie

1.2.8. Histopathologische Aufarbeitung des SLN

Gezielte Anforderungen werden an die histopathologische Aufarbeitung der SLN gestellt [(Wittekind 2003)]. Die SLN werden dabei in Serien- Stufenschnitten aufgearbeitet, der Stufenabstand beträgt maximal 250 μm , um eine mögliche Tumordinfiltration erfassen zu können. Die Anwendung von immunhistochemischen Untersuchungen erleichtert die Detektion von Mikrometastasen und isolierten Tumorzellen. Erfasst werden sollen hierbei sowohl Makrometastasen als auch Mikrometastasen bzw. einzelne Tumorzellen. Voraussetzung für die Entdeckung sämtlicher Metastasen ab 2 mm ist die vollständige Einbettung des Lymphknotens und eine gleichmäßige Verteilung der Ebenen bei Erstellung der histologischen Schnitte. Dabei sollten die Schnitte eine Dicke von maximal 3 mm aufweisen. Bei Tumornegativität und insbesondere beim lobulärem Mammakarzinom erfolgt eine immunhisto-chemische Untersuchung mit Zytokeratin Antikörpern. Damit kann der Einsatz von ergänzenden Immunhistochemien die pathologische Aufarbeitung und Beurteilung erleichtern und die diagnostische Sicherheit verbessern. Dieses Verfahren erfolgt routinemäßig beim lobulär invasiven Mammakarzinom.

Tab. 2: Morphologische Klassifikation gemäß TNM-Klassifikation [(Köchli et al. 2005)]

Befund	Größe	Klassifikation
Makrometastasen	>0,2 cm	pN1
Mikrometastasen	>0,2 mm <0,2 cm	pN1 mi
Isolierte Tumorzellen (ITC)		
Einzelne oder in Gruppen nachgewiesene Tumorzellen mit einer Größe von <0,2 mm		
Der Nachweis gelingt selten in der HE-Färbung. Sie werden wie bei meistens notwendigem immunhistologischem Nachweis klassiert		pN0 (i+)
Nachweis mit morphologischen Methoden		pN0 (mol+)

Tab. 3: Histologische Differenzierung gemäß TNM-Klassifikation [(Köchli et al. 2005)]

Befund	Klassifikation
Isolierte Tumorzellen ITC) <0,2 mm	pN0 (i+) / pN0 (mol+)
Mikrometastasen >0,2 mm <0,2 cm	pN1mi
Makrometastasen >0,2 cm	pN1

1.3. Fragestellung der Arbeit

Mit der vorliegenden Studie sollte der Stellenwert der Fluoreszenzmethode mittels Einsatz des Fluoreszenzfarbstoffes ICG im Direktvergleich (intraindividuell) zur Technetium-Markierung mit [Tc-99m] zur Detektion des SLN überprüft werden. Hierzu wurde ein Ethikvotum eingeholt, da der Fluoreszenzfarbstoff ICG der Firma Pulsion für die intravenöse, nicht allerdings für die subkutane oder intradermale Injektion primär zugelassen ist (Ethikvotum in der Anlage).

Im Rahmen der vorliegenden prospektiven Studie wurden die Detektionsraten von Technetium in Form des üblichen Standardverfahrens mittels kommerziell erhältlicher Nanocoll®-Kits (Humanalbumin 500 µg/vial; GE Healthcare) erfasst und im direkten intraindividuellen Vergleich mit der Fluoreszenzmethode verglichen. Erfasst wurden dabei jeweils die Detektionsraten der verschiedenen Methoden einzeln und im Vergleich. Gleichzeitig wurde die Anzahl der erfassten SLN pro Patientin mit der jeweiligen Methode erfasst und verglichen. Eine weitere Fragestellung überprüfte, ob tumorfreie aber auch karzinomatös befallene Lymphknoten in gleicher Form detektiert werden können. Zur Erfassung von potentiellen Nebenwirkungen bei der in dieser Studie eingesetzter intradermaler ICG-Injektion wurde der Lokalbefund bezüglich anhaltender Tätowierung und potentiell auftretender Hautreaktionen beobachtet.

Gleichzeitig wurde die Pharmakovigilanz in Form einer Erfassung von potentiellen Nebenwirkungen, sowie einer Bestimmung von wesentlichen Laborparametern überprüft. Hauptziel war es die Fluoreszenztechnik bzgl. Sensitivität und Validität bei der Detektion von SLN zu untersuchen [(ICH Topic E8 1998), (ICH Topic E9 1998)].

2. Patienten und Methodik

2.1. Einschlusskriterien – Rekrutierung der Patientinnen

Die erfassten Daten wurden im Rahmen einer nichtrandomisierten monozentrischen Phase-II-Studie erhoben. Grundlage war ein positives Votum der Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen. Die Patienten wurden im Zeitraum von 02.2011–12.06.2013 für diese Studie rekrutiert. Sie wurden gemäß den Studienvorgaben aufgeklärt und erhielten mit ihrer Zustimmung für eine Studienteilnahme unter Studienbedingungen die SLN-Detektion mittels Technetium und ICG-Pulsion. Erfasst wurden demographische und entsprechende klinische Daten im Rahmen der SLNB sowie die Daten zur intraoperativen Detektion nach Injektion von Technetium am Vortag oder präoperativ und ICG intraoperativ in einer Computerdatenbank.

Die Patientendaten wurden unter Maßgabe einer Pseudonymisierung in einer Datenbank erfasst und zur weiteren Auswertung elektronisch archiviert. Eingeschlossen in die Studie wurden Patientinnen mit einem histopathologisch gesicherten Mammakarzinom, die gemäß gültiger Leitlinie eine Indikation für eine SLN-Biopsie mittels konventionellen Verfahren, in erster Linie Radionuklid aufwiesen. Abweichend von der aktuellen Leitlinie wurden nur Patientinnen mit einem Tumorstadium cT1–cT2 erfasst.


Bei der vorliegenden Promotionsschrift handelt es sich um eine klinische operative Studie, bei der der Fluoreszenzfarbstoff Indocyaningrün der Firma Pulsion (ICG-Pulsion) im Vergleich zur klassischen Radionuklidmethode eingesetzt wurde. Da ICG-Pulsion aktuell nur eine Zulassung zur intravenösen Applikation besitzt, wurde die Untersuchung im Rahmen einer Phase-II-Studie mit Ethikvotum zur Erfassung der Pharmakovigilanz von einem Monitorteam der Firma CenTrial überwacht. Es wurde ausschließlich ICG als Prüfmedikation der Firma Pulsion eingesetzt, keine Handelsware. Die klinischen Daten zur Detektion wurden im Rahmen der Promotionsschrift ausgewertet, die Daten zur Pharmakovigilanz wurden unter dem Aspekt, eine Zulassung für die lokale Applikation von ICG (hier speziell intradermal) beim Bundesinstitut für

Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) zu beantragen, von der Firma CenTrial dokumentiert und ausgewertet.

Die im Weiteren beschriebenen operationstechnischen Durchführungen und Auswertungen waren Inhalt der Promotionsschrift, ebenso die entsprechende Ausarbeitung der intraoperativen diagnostischen und operativen Abläufe. Die Liste wurde nach Auflistung der Einschlusskriterien gemäß Studienprotokoll erstellt (Abb. 11).

Voraussetzungen zum Studieneinschluss:

1. histologisch gesichertes Mammakarzinom im klinischen Tumorstadium cT1 und cT2, max. Durchmesser < 5 cm, Multizentrität war ausgeschlossen, Grading G1-G3
2. Indikation zu einer routinemäßigen Sentinel-Lymphknoten-Biopsie als Teil des primär operativen Vorgehens
3. Alter 18-80 Jahre
4. BMI <30
5. Gewährleistung von Narkosefähigkeit und Voraussetzung für eine operative Intervention
6. Voraussetzungen für eine adäquate Lymphographie
7. weitere nuklearmedizinische Untersuchungen dürfen max. 1 Woche vor oder 1 Woche nach ICG-Pulsion® eingesetzt werden
8. keine auffälligen Laborparameter (Safety-Lab)
9. Ausschluss einer Schwangerschaft (postmenopausaler Status oder negativer Schwangerschaftstest)
10. Einwilligung in die entsprechenden Untersuchungen gemäß Protokoll in Form einer schriftlichen Einwilligung in die klinische Studie

Pulsion Medical Systems SE Study No.: PULSION-001 EudraCT No.: 2011-003194-28	Screening No.: S <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Visit 1 / Screening (Day -9 to -1) Page 9 of 18																																				
<h3>Inclusion and Exclusion Criteria</h3> <p>Inclusion Criteria:</p> <p> If any of the inclusion criteria are answered with „No“, then the patient must not be included in the study.</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;"></th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Yes</th> <th style="width: 10%; text-align: center;">No</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. Early breast cancer: histopathologically confirmed diagnosis, maximum tumour stage T1 and T2, therefore diameter ≤ 5 cm, unifocal tumour or multifocal tumour Grading G1 - G3</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>2. Indicated sentinel lymph node biopsy as part of the patient's routine management for breast cancer</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>3. Age: 18 – 80 years, inclusive</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>4. BMI: ≤ 30 (please refer to page 4)</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>5. General operability</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>6. Intact site-specific anatomy at the concerned breast and /or axilla for ensuring an adequate lymphangiography</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>7. If a performance of investigations with radioactive traced iodide is planned, this has to be performed at least 1 week before or 1 week after ICG application</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>8. No clinically significant findings in the routine blood examinations</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>9. Female subjects must either be at least two years postmenopausal or must have a negative pregnancy test prior to Tc application and must use a highly effective means of birth control</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>10. Willing and able to complete screening and study procedures, as described in the protocol</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>11. Signed written informed consent to participate in this clinical trial</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> </tbody> </table>			Yes	No	1. Early breast cancer: histopathologically confirmed diagnosis, maximum tumour stage T1 and T2, therefore diameter ≤ 5 cm, unifocal tumour or multifocal tumour Grading G1 - G3	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2. Indicated sentinel lymph node biopsy as part of the patient's routine management for breast cancer	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3. Age: 18 – 80 years, inclusive	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	4. BMI: ≤ 30 (please refer to page 4)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	5. General operability	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	6. Intact site-specific anatomy at the concerned breast and /or axilla for ensuring an adequate lymphangiography	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	7. If a performance of investigations with radioactive traced iodide is planned, this has to be performed at least 1 week before or 1 week after ICG application	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	8. No clinically significant findings in the routine blood examinations	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	9. Female subjects must either be at least two years postmenopausal or must have a negative pregnancy test prior to Tc application and must use a highly effective means of birth control	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	10. Willing and able to complete screening and study procedures, as described in the protocol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	11. Signed written informed consent to participate in this clinical trial	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Yes	No																																			
1. Early breast cancer: histopathologically confirmed diagnosis, maximum tumour stage T1 and T2, therefore diameter ≤ 5 cm, unifocal tumour or multifocal tumour Grading G1 - G3	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
2. Indicated sentinel lymph node biopsy as part of the patient's routine management for breast cancer	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
3. Age: 18 – 80 years, inclusive	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
4. BMI: ≤ 30 (please refer to page 4)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
5. General operability	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
6. Intact site-specific anatomy at the concerned breast and /or axilla for ensuring an adequate lymphangiography	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
7. If a performance of investigations with radioactive traced iodide is planned, this has to be performed at least 1 week before or 1 week after ICG application	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
8. No clinically significant findings in the routine blood examinations	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
9. Female subjects must either be at least two years postmenopausal or must have a negative pregnancy test prior to Tc application and must use a highly effective means of birth control	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
10. Willing and able to complete screening and study procedures, as described in the protocol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			
11. Signed written informed consent to participate in this clinical trial	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																			

CenTrial GmbH, Finale Version 1.1, 13.02.2012

Abb. 11: Einschlusskriterien für eine Studienteilnahme (Auszug aus Prüfplan)

2.2. Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Patientenrekrutierung war der histopathologische Nachweis nach vorausgegangener Stanze bzw. Biopsie eines axillären Lymphknotens mit histopathologisch gesichertem Lymphknotenbefall eines Mammakarzinoms. Es durfte auch bildmorphologisch kein Hinweis auf axilläre Lymphknotenmetastasen vorliegen.

Dazu wurde der axilläre Lymphknotenstatus jeweils mit 10 MHz-Linear-Ultraschallsonden beurteilt, mit dem Ziel einen positiven Lymphknotenstatus per Bildgebung klinisch sicher ausschließen zu können.

Bildgebend durfte der Tumordurchmesser des Primärtumors ein Tumorstadium > T2 nicht überschreiten. Die Liste wurde nach Auflistung der Ausschlusskriterien gemäß Studienprotokoll erstellt (Abb. 12).

Folgende Ausschlusskriterien waren Grundlage für die Untersuchung:

- Tumorstadien klinisch T3 und T4 sowie inflammatorische oder exulzerierte Mammakarzinome
- im Vorfeld erfolgte operative Eingriffe im Axillabereich
- vorangegangene Strahlentherapie im Bereich von Brust, Axilla, Brustwand
- klinischer Hinweis auf Vorliegen von karzinomatös befallenen Lymphknoten (Bildgebung insbesondere per Ultraschall oder Feinnadelbiopsie)
- Ausschluss von Kontraindikationen gegen eine Technetiumdarstellung
- Ausschluss von allergischen Reaktionen gegen die angewandten Substanzen oder Unverträglichkeit von ICG-Pulsion® im Vorfeld
- Bekannte allergische Diathese, die möglicherweise eine allergische Reaktion auf ICG-Pulsion® vermuten lässt
- Jod- oder Schellfischallergie
- Kontraindikationen die auf Unverträglichkeit des Produktes schließen lassen
- Hyperthyreose (autonome Schilddrüsenerkrankungen)
- Eingeschränkte Nierenfunktion mit einem Kreatinin > 1,5 mg/dl
- Komplette Obstruktion der lymphatischen Gefäße
- Eingeschränkte Organfunktion (kardial, renal)
- akute infektiöse Erkrankungen oder fieberhafte Temperaturen

Pulsion Medical Systems SE Study No.: PULSION-001 EudraCT No.: 2011-003194-28	Screening No.: S <input style="width: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px;" type="text"/> Visit 1 / Screening (Day -9 to -1) <div style="text-align: right;">Page 10 of 18</div>																																																			
<p>Exclusion Criteria:</p> <p> If any of the exclusion criteria are answered with „Yes“, then the patient must not be included in the study.</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;"></th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Yes</th> <th style="width: 10%; text-align: center;">No</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. Breast cancer: stage T3 or T4 carcinoma, inflammatory or exulcerated mamma carcinoma</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>2. Former surgery in the axilla</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>3. Any previous radiotherapy at the concerned breast and / or axilla and / or chest wall</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>4. Definite lymph node metastases (ultrasound and / or fine-needle aspiration) (definite nodal positive patients in fine-needle aspiration)</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>5. Contraindication for technetium imaging</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>6. History of allergy or hypersensitivity against the investigational medicinal products (its active substance or ingredients)</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>7. History of intolerance to ICG-Pulsion® during a previous injection, as this may lead to serious anaphylactic reactions</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>8. History of allergic diseases / hypersensitivities, unless the investigator considers the allergic disease as clinically irrelevant for the purpose of this clinical trial</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>9. Allergy to iodine or to shellfish</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>10. Any other contraindication to one of the investigational medicinal products as described in their Summary of Product Characteristics</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>11. Apparent hyperthyroidism, autonomous thyroid adenoma, unifocal, multifocal or disseminated autonomies of the thyroid gland</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>12. Advanced renal impairment (creatinine > 1,5mg/dl)</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>13. Complete lymphatic obstruction</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>14. All clinically relevant internal medicinal diseases, cardiac or renal that could impair the outcome of the clinical trial or that in the investigator's mind are not compatible with participation for medical reasons</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>15. Acute inflammatory or febrile illness</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>16. Evidence of local inflammation at the site of surgery</td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="radio"/></td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: right; margin-top: 10px;">to be continued on next page</p>			Yes	No	1. Breast cancer: stage T3 or T4 carcinoma, inflammatory or exulcerated mamma carcinoma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2. Former surgery in the axilla	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3. Any previous radiotherapy at the concerned breast and / or axilla and / or chest wall	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	4. Definite lymph node metastases (ultrasound and / or fine-needle aspiration) (definite nodal positive patients in fine-needle aspiration)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	5. Contraindication for technetium imaging	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	6. History of allergy or hypersensitivity against the investigational medicinal products (its active substance or ingredients)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	7. History of intolerance to ICG-Pulsion® during a previous injection, as this may lead to serious anaphylactic reactions	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	8. History of allergic diseases / hypersensitivities, unless the investigator considers the allergic disease as clinically irrelevant for the purpose of this clinical trial	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	9. Allergy to iodine or to shellfish	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	10. Any other contraindication to one of the investigational medicinal products as described in their Summary of Product Characteristics	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	11. Apparent hyperthyroidism, autonomous thyroid adenoma, unifocal, multifocal or disseminated autonomies of the thyroid gland	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	12. Advanced renal impairment (creatinine > 1,5mg/dl)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	13. Complete lymphatic obstruction	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	14. All clinically relevant internal medicinal diseases, cardiac or renal that could impair the outcome of the clinical trial or that in the investigator's mind are not compatible with participation for medical reasons	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	15. Acute inflammatory or febrile illness	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	16. Evidence of local inflammation at the site of surgery	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Yes	No																																																		
1. Breast cancer: stage T3 or T4 carcinoma, inflammatory or exulcerated mamma carcinoma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
2. Former surgery in the axilla	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
3. Any previous radiotherapy at the concerned breast and / or axilla and / or chest wall	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
4. Definite lymph node metastases (ultrasound and / or fine-needle aspiration) (definite nodal positive patients in fine-needle aspiration)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
5. Contraindication for technetium imaging	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
6. History of allergy or hypersensitivity against the investigational medicinal products (its active substance or ingredients)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
7. History of intolerance to ICG-Pulsion® during a previous injection, as this may lead to serious anaphylactic reactions	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
8. History of allergic diseases / hypersensitivities, unless the investigator considers the allergic disease as clinically irrelevant for the purpose of this clinical trial	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
9. Allergy to iodine or to shellfish	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
10. Any other contraindication to one of the investigational medicinal products as described in their Summary of Product Characteristics	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
11. Apparent hyperthyroidism, autonomous thyroid adenoma, unifocal, multifocal or disseminated autonomies of the thyroid gland	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
12. Advanced renal impairment (creatinine > 1,5mg/dl)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
13. Complete lymphatic obstruction	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
14. All clinically relevant internal medicinal diseases, cardiac or renal that could impair the outcome of the clinical trial or that in the investigator's mind are not compatible with participation for medical reasons	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
15. Acute inflammatory or febrile illness	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		
16. Evidence of local inflammation at the site of surgery	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																																		

CentTrial GmbH, Finale Version 1.1, 13.02.2012

Abb. 12: Ausschlusskriterien für eine Studienteilnahme (Auszug aus Prüfplan)

2.3. Angewandte Untersuchungstechniken zur SLN-Detektion

Die SLN-Detektion des axillären Lymphknotens beim Mammakarzinom erfolgte nach konventioneller Technetium-Markierung sowie simultan im intra-individuellen Vergleich anstelle der blauen Farbstoffmethode mittels des Fluoreszenzfarbstoffes ICG-Pulsion. Dabei wurde eine intradermale Injektion des Fluoreszenzfarbstoffes periareolär durchgeführt. Erfasst wurden damit im intraindividuellen Vergleich die Detektionsmöglichkeit von axillären Lymphknoten mittels beider Verfahren sowie gleichzeitig auch eine Erfassung der Anzahl der insgesamt mit den verschiedenen Methoden detektierten SLN. Da es sich um eine Phase-II-Studie handelte, wurden ergänzend die zur Erfassung der Pharmakovigilanz geforderten Laborparameter veranlasst (jeweils prä- und postoperativ) und der jeweilige Lokalbefund nach Injektion auf potentiell auftretende Hautreaktionen überprüft. Die Indikation zur SLNB wurde unter Berücksichtigung der aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Senologie und der Arbeitsgemeinschaft für gynäkologische Onkologie (AGO) im Rahmen einer präoperativen interdisziplinären Konferenz gestellt [(Kühn et al. 2003), (Interdisziplinäre S3-Leitlinie 2017)].

2.4. Patientinnen

Patientinnen, die die oben aufgeführten Ein- und Ausschlusskriterien für eine Sentinel-Node-Biopsie erfüllten und in eine Studienteilnahme einwilligten, konnten in die Studie eingebracht werden. Die für die Auswertung erfassten Patientendaten wurden im Rahmen einer nicht randomisierten monozentrischen Phase-II-Studie erhoben. Grundlage war ein positives Votum der Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen (478/2011AMG1). Die Patientinnen wurden im Zeitraum von März 2012 bis Juni 2013 gemäß der Studienvorgabe aufgeklärt und mit ihrer schriftlichen Zustimmung für die Studie rekrutiert (Patienten-Aufklärungsbogen und Einwilligungsf formular im Anhang beigefügt). Demographische und klinische Daten, die im Rahmen der SLNB erhoben wurden sowie potentielle perioperative Komplikationen die im Rahmen die SLNB entstanden sind, wurden in einer Computerdatenbank erfasst.

Die Patientendaten wurden unter Maßgabe einer pseudonymisierten Verarbeitung elektronisch für die anschließende Auswertung archiviert. Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 126 Patientinnen rekrutiert. Erfasst wurde zusätzlich bei den Patientinnen der Body-Maß-Index (BMI) eingeteilt nach BMI ≤ 40 , ≤ 35 bzw. ≤ 30 . Eine Übersicht über die Tumorstadien der in die Studie eingeschlossenen Patientinnen nach TNM-Klassifikation befindet sich in Tabelle 4. Um einen Bias auszuschließen wurde das Studienkollektiv mit den mittels OnkoZert erfassten Patientinnen, die im gleichen Behandlungszeitraum am Brustzentrum Tübingen operiert wurden, verglichen. Erfasst und verglichen wurde dabei vor allem das Tumorstadium. Insbesondere die Anzahl der erfassten Patientinnen in den Tumorstadien pT1 mit 62,9 % mittels OnkoZert und im Rahmen der Studie mit 61,2 % sowie die Patientinnen mit pT2-Tumoren mit 28,5 % nach OnkoZert und 27,4 % im Rahmen der Studie können dies bestätigen.

Tab. 4: Übersicht über die Tumorstadien (nach TNM Klassifikation) von im Rahmen der Studie (n=126 Pat.) erfassten Patientinnen im Vergleich zu im gleichen Zeitraum behandelten Patientinnen am Brustzentrum Tübingen (Daten aus Qualitäts-Bericht von OnkoZert 2013, Auditerbericht intern)

Studie			Vergleichskollektiv	
Tumorstadium	Häufigkeit (n)	Häufigkeit (%)*	(n)	Häufigkeit (%)
pT1a	3	61,2	348	62,9
pT1b	21			
pT1c	42			
pT2	43	27,4	151	28,5
pTis	13	10,4	78	7,2
pTmic	4	1,0	8	1,4

*Prozentzahl bezogen auf Gesamtkollektiv – nicht berücksichtigt die Tumorstadien pT3 und pT4.

Um im Rahmen der weiteren Auswertungen eine Aussage zu einer potentiellen Abhängigkeit der Detektionsrate insbesondere für ICG-Pulsion von einem BMI machen zu können, wurden die Patientinnen nach ihrem BMI ≤ 40 , ≤ 35 bzw. ≤ 30 eingeteilt (Tab. 5).

Tab. 5: Patientinnen nach BMI-Index aufgelistet – 3 Patientinnen wiesen einen BMI >40 auf

	BMI ≤ 40	BMI ≤ 35	BMI ≤ 30
Anzahl erfasster Patientinnen	123	120	107
Markierung mit I Technetium	ja	ja	ja
Markierung mit ICG	ja	ja	ja
Studienvisiten komplett vorliegend	ja	ja	ja
Drop out aus Studie	0	0	0

2.5. Zielparameter

Zielparameter war die Erfassung der jeweiligen Detektionsraten, d.h. die Detektion der SLN im direkten Vergleich mittels Technetium-Verfahren und ICG. An weiteren Parametern wurden die jeweiligen Detektionsraten in Abhängigkeit einer regionalen Lymphknotenmetastasierung untersucht, d.h. die Fälle überprüft bei denen ein karzinomatöser Lymphknotenbefall vorlag ohne entsprechende SLN Detektion mittels Technetium oder ICG-Pulsion.

Die Detektionsrate wurde wie folgt berechnet: Anzahl der erfolgreich detektierten SLN bzw. das Auffinden von SLN durch Anzahl der untersuchten Patientinnen. Die Detektionsrate gibt die Rate der erfolgreichen Sentinel-Node-Detektionen wieder, d.h. die Anzahl von Patientinnen bei denen pro Patientin mindestens ein SLN gefunden wurde (in %). Die Detektionsrate ist dabei unabhängig vom tumorösen Befall oder fehlendem Tumorbefall der SLN. Die Detektionsrate gibt die Häufigkeit an, mittels der mit Hilfe von Tc oder ICG bei einer Patientin bzw. mit beiden Methoden Wächterlymphknoten gefunden werden konnten. Zahlenmäßig erfasst wurden die mittels SLNB untersuchten Patientinnen, aber auch die Gesamtzahl der mittels der verschiedenen Methoden detektierten Einzellymphknoten. Gleichzeitig wurde differenziert in tumorös befallene Lymphknoten, d.h. die Rate der nodalpositiven Patientinnen, bei denen auch der SLN einen Tumorzellbefall aufwies, d.h. der Prozentsatz richtig erkannter Patientinnen mit lymphatischer Metastasierung. Die Sensitivität war dabei unabhängig von der Prävalenz nodalpositiver Fälle.

Da es sich gleichzeitig um eine pharmakologische Phase-II-Studie handelte, mit Erfassung von hämatologischen sowie nichthämatologischen Toxizitäten (Pharmakovigilanz), wurden weitere Parameter in Form von klinischen Symptomen als Zeichen potentieller Toxizitäten erfasst wie Auftreten einer Tachykardie oder Symptome wie Übelkeit oder Erbrechen. In der Fachinformation für die übliche i.v. Applikationen finden sich als potentielle Nebenwirkungen anaphylaktische Reaktionen oder Urtikaria. Diese wurden in sehr seltenen Fällen mit einer Häufigkeit von $<1/10.000$ beschrieben.

Zum Ausschluss potentieller Organtoxizität wurden in der vorliegenden Studie Routine–Laboruntersuchungen vor ICG-Applikation, d.h. präoperativ sowie im postoperativen Verlauf durchgeführt. Gemäß Fachinformation wurden bei i.v. Applikation keine veränderten Laborwerte gefunden auch nicht im Falle einer Arzneimittelüberdosierung [(Fachinformation ICG-Pulsion 2010)]. Nach intravenöser Applikation ist bekannt, dass ICG rasch an Plasmaproteine gebunden wird und im Organismus keinem Stoffwechsel unterliegt.

2.6 Durchführung der Sentinel-Lymphknoten-Detektion mittels Radionuklid-Methode

Bei jeder Patientin wurden in Sequenz beide Verfahren, sowohl die Radionuklid-Methode als auch das Fluoreszenzverfahren, eingesetzt.

Die Technetium-Markierung erfolgte nach Standardverfahren mit [Tc-99m]-Nanocoll®. Dabei wurde kommerziell verfügbares Nanocoll® (Humanalbumin 500 µ/vial) der Firma GE Healthcare am Vortag subkutan/intradermal periareolär injiziert. Dabei wurde Nanocoll® mit Natriumpertechnit verdünnt, um [Tc-99m] als an Albumin gebundene Nanocolloid-Lösung zur Applikation herzustellen. Die applizierte [Tc-99m]-Nanocoll Menge wurde protokollgerecht subkutan/intradermal periareolär injiziert. Verabreicht wurden gemäß dem 2-Tages-Protokoll zwischen 39 und 102 MBq analog der in der klinischen Routine üblichen Dosierung. Dabei erfolgte die Applikation am Nachmittag des Vortages vor dem geplanten operativen Eingriff bzw. nach dem 1-Tages-Protokoll am Operationstag jeweils morgens. Bei dem 2-Tages-Protokoll wurden üblicherweise 50–80 MBq Technetium injiziert, beim 1-Tages-Protokoll erhielten die Patientinnen in der Regel 20–40 MBq Technetium (Abb. 14). Die Abbildung ist Bestandteil des Studienprotokolls der Firma CenTrial.

Die Technetiumapplikation und die Anfertigung eines Lymphszintigrammes erfolgten jeweils in der Klinik für Nuklearmedizin nach vorliegendem Protokoll. Die Detektion intraoperativ erfolgte jeweils mit einer Sonde (Neoprobe GDS – Gamma Detection System Devicor Medical Products). Die Dokumentation erfolgte mittels eines Dokumentationsbogens, der im Sinne der Auswertbarkeit

Teil der Studiendokumentation war (siehe Protokoll zur SLN-Detektion mittels Technetium analog Prüfplan). Dieser wurde im Rahmen der Studie in Kooperation mit der Firma Pulsion Medical Systems erstellt.

Nach Applikation des Radionuklids wurde zunächst eine Lymphszintigraphie durch die Kollegen der Klinik für Nuklearmedizin angefertigt. Damit erhielt der Operateur Hinweise über die Lage und Anzahl speichernder Lymphknoten. Mit der Messsonde Neoprobe GDS war es dem Operateur möglich, neben einem visuellen Eindruck auch ein digital und analog akustisch vermitteltes Signal zu erhalten. Dies erleichterte ihm die entsprechende Hautinzision vorzunehmen und im subkutanen Fettgewebe (Lymphfettgewebe) den entsprechenden SLN zu detektieren und zu exstirpieren. Im entsprechenden zur Dokumentation vorgesehenen Protokoll wurde exakt die verabreichte Dosis des Technetiums dokumentiert, die Uhrzeit und eine entsprechende Dokumentation der Lymphszintigraphie (Abb. 13). Dies entsprach damit den Qualitätsanforderungen der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin, entsprechend auch der S1-Leitlinie [(Schmidt et al. 2014)].

Die in der Folge durchgeführte operative Intervention erfolgte durch eine kleine Hautinzision im Bereich der vorderen Axillarlinie über dem mit der Gammasonde lokalisierten Ort der höchsten Aktivität. Nach Hautinzision erfolgte die entsprechende Präparation der Faszie und des axillären Fettkörpers, geführt durch die Gammasonde. Es erfolgte eine Messung der Radioaktivität vor Hautinzision im subkutanen Fettgewebe und direkt über den entsprechenden SLN sowohl vor als auch nach Exstirpation. In der Folge wurden der speichernde Lymphknoten bzw. die Lymphknotengruppe entfernt. Nicht-speichernde Lymphknoten wurden in der Regel belassen. Zeigten sich allerdings zusätzlich inspektorisch oder palpatorisch verdächtige nicht-speichernde Lymphknoten, wurden diese als non-Sentinel entfernt. Zum Abschluss wurde die Wundregion nochmals auf Radioaktivität mit der handgeführten Gammasonde überprüft.

Pulsion Medical Systems SE Study No.: PULSION-001 EudraCT No.: 2011-003194-28	Patient No.: [][][][] Visit 2 (Day -1)		
Page 13 of 18			
Injection of 99m Tc Nanocoll®			
Date of injection:	[][][] . [][][][] . [][][][][] D D M M M Y Y Y Y	Time of injection: (24h clock time)	[][] : [][] h h m m
99mTC preparation:	<input type="radio"/> filtered	<input type="radio"/> unfiltered	<input type="radio"/> unknown
Location of the injection:	<input type="radio"/> subdermal	<input type="radio"/> periareolar	
Dose of 99m Tc:	[][][][] , [][] (Mbq)		
Lymphoscintigraphy			
Sentinel lymph nodes detected:	<input type="radio"/> yes		<input type="radio"/> no
Localisation:	<input type="radio"/> axillary, quantity: _____	<input type="radio"/> paraclavicular	<input type="radio"/> mediastinal
Time of localisation: (24h clock time)	[][] : [][] h h m m		
Comment log nuclear medicine: <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>			

Abb. 13: Protokoll zur SLN Detektion mittels Technetium (Auszug aus Prüfplan)

2.7. Praktische Durchführung des Fluoreszenzverfahrens mittels ICG-Pulsion

Bei der eingesetzten Fluoreszenztechnik erfolgte die Farbmarkierung durch den Einsatz von ICG-Pulsion. Die ICG-Pulsion Lösung wurde unmittelbar vor Operationsbeginn zubereitet. Die speziell für die Studie zubereitete Prüfmedikation wurde abgepackt in Form von 25 mg ICG Ampullen (Vials) in Pulverform zur Verfügung gestellt. Zur Anwendung wurde jeweils ein Vial mit 5 ml Aqua dest. zur Injektion gelöst pro Patientin und davon 2 ml der Lösung (10 mg ICG) unmittelbar präoperativ intradermal und periareolär in das tumortragende Segment injiziert. In der Regel erfolgte die Injektion 15-20 Minuten vor der operativen SLN-Detektion, d. h. standardisiert nach Beendigung der Narkoseeinleitung vor Abwaschen des Wundgebietes. Der OP-Ablauf wurde ebenfalls zeitlich festgelegt. Bei isoliertem Zugang zur Axilla (nicht über die Mammaumschneidungsfigur) wurde mit der SLN-Biopsie begonnen. Bei Zugang über die mammäre Schnittführung (brusterhaltende operative Intervention oder auch ablatives Vorgehen) wurde vor Beginn der Umschneidung, d.h. der Hautinzision im mammären Bereich mit der Detektion der Lymphbahnen zur SLN-Auffindung begonnen. Zur Detektion mit der entsprechenden Fluoreszenztechnik wurde eine Kamera der Firma Hamamata eingesetzt. Die Kamera mit dem Namen Photo Dynamic Eye ermöglichte über Dioden (Leeds) Licht bei einer Wellenlänge von 760 nm zu produzieren und gleichzeitig das Fluoreszenzsignal aufzunehmen. Dabei wurde der Farbstoff zur Fluoreszenz angeregt. Der Detektor bestand aus einer CCD-Kamera und war in der Lage, das Licht bei einer Wellenlänge unter 820 nm zu filtern. Das Fluoreszenzsignal wurde dabei in eine schwarz/weiße Bilddarstellung transferiert und kontinuierlich auf einem Monitor zur Darstellung gebracht. Beim praktischen Vorgehen erfolgte zunächst die Detektion des SNL mit der Gammasonde nach entsprechender Lymphszintigraphie. Das entsprechende Hautareal mit Signalgebung wird mittels Markierungsstift versehen. Auch die Infrarotlichtkamera PDE (Detektionskopf des Pulsionsgerätes) wurde mit einem sterilen Überzug versehen. Das Gerät wurde unmittelbar vor Detektionsbeginn in Aktion gebracht.

Ein wesentlicher Faktor war dabei die entsprechende adäquate Einstellung des Raumlichtes nach entsprechenden vorliegenden Lichtverhältnissen. Nur so konnte makroskopisch die Anatomie erkannt werden und dennoch die Fluoreszenz zur Darstellung gebracht werden. Wesentlich war dabei auch ein entsprechender Abstand der Infrarotkamera zum Operationsgebiet. In der Regel empfahl es sich eine Distanz von 20-25 cm von der eigentlichen Haut einzuhalten. Zur Erfassung der einzelnen Parameter bei Einsatz der Fluoreszenztechnik war es erforderlich eine gewisse Lernkurve zu absolvieren. Die praktische Umsetzung der Detektion mittels Fluoreszenz und die hierzu erfasste Vorgehensweise wurde empirisch unter Berücksichtigung der einzelnen Einschlussvariablen erarbeitet und für die Studie im Weiteren festgelegt. Im Rahmen einer standardisierten Darstellungstechnik (mit entsprechender Lernkurve) wurde nach Injektion von ICG unter Einsatz der PDE-Kamera die Lymphbahn vom Injektionsdepot ausgehend bis in die Region der Axilla dargestellt (Abb. 14). An der Stelle des Abbruches der Lymphbahn und damit einem Tiefertreten des fluoreszierenden Farbstoffes ICG in tiefere subkutane Gewebsschichten wurde der SLN vermutet (Abb. 15). Die Haut wurde an dieser Stelle markiert und mit der mittels Technetium markierten vermuteten SNL-Gruppe korreliert. In der Folge wurde die Haut an dieser Stelle über eine Distanz von 3-4 cm inzidiert. Dabei wurde von einer Eindringtiefe und Detektierbarkeit der Fluoreszenz bis zu einer Eindringtiefe von 1,5-2 cm ausgegangen. Nach Hautinzision konnte mittels der Kamera in der Regel ein erster fluoreszierender Lymphknoten in dieser Region detektiert werden (Abb. 16). Parallel dazu erfolgte unmittelbar im Anschluss die konventionelle Detektion des im Vorfeld mittels Technetium markierten Lymphknotens.

Dabei wurde der mittels Fluoreszenz detektierte SLN bzw. die Sentinelgruppe ebenso wie der mittels Technetium ermittelte SLN hinsichtlich Radioaktivität bzw. Signalgebung überprüft. Ergänzend wurde dabei mittels der Gamma-Kamera das Zentrum der maximalen Zahl an Counts überprüft und dokumentiert. Damit konnte eine eindeutige Zuordnung der mittels der beiden verschiedenen Methoden detektierten SLN erfasst werden.

Nach gezielter Exstirpation des jeweils detektierten Lymphknotens erfolgte nochmals eine Überprüfung der eröffneten Axillaregion, zunächst mittels Fluoreszenztechnik (Einsatz der Fluoreszenzkamera) und in der Folge eine Überprüfung bezüglich weiterer bzw. noch vorhandener Restradioaktivität mittels der Gamma-Kamera. Falls mit einer der beiden Methoden eine weitere Signalgebung bzw. Fluoreszenz zu erkennen war, wurden weitere Lymphknoten exstirpiert (Anleitung zur praktischen Durchführung in der Anlage). Ergab sich kein Hinweis auf eine weitere Signalgebung, wurde der Eingriff beendet und die Haut nach Blutstillung verschlossen. Der detektierte und exstirpierte SNL wurde nochmals bzgl. Fluoreszenz und Signalgebung mittels der Gammakamera überprüft (Abb. 17).



Abb. 14: Auf der Haut markierte Lymphbahnen gemäß Verlauf der Fluoreszenz und Hautinzisionsstelle bei Raumlicht in Abhängigkeit des zuvor ermittelten Fluoreszenzverlaufs

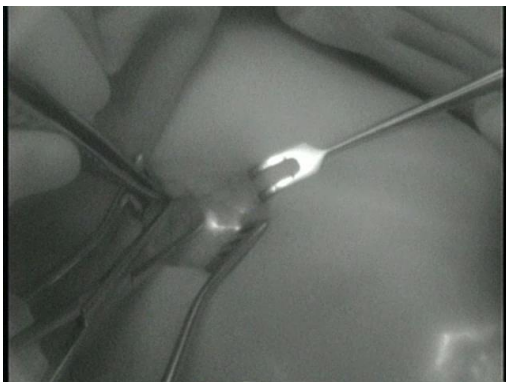


Abb. 15: Zuführende Lymphbahn mit Abbruch der Fluoreszenz als Hinweis für ein Tiefertreten der Fluoreszenz zum Sentinel Lymphknoten - erfasst mit der PDE Kamera

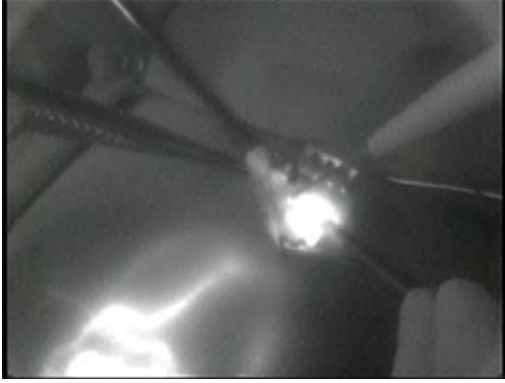


Abb. 16: Darstellung des fluoreszierenden Primärtumors mit der zum Sentinel-Lymphknoten führenden Lymphbahn und einem stark fluoreszierendem Sentinel-Lymphknoten- erfasst mit der PDE Kamera

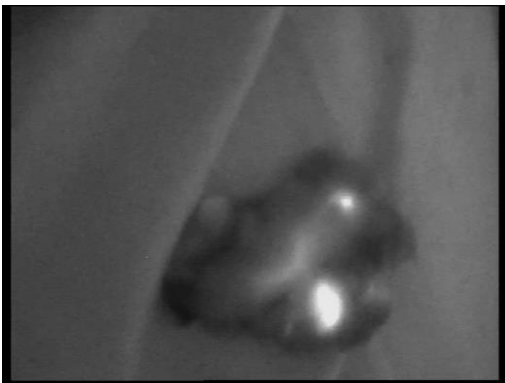


Abb. 17: Exstirpiertes Lymph-Fettgewebe mit fluoreszierenden Lymphknoten (2 SNL)

Für die Detektion mittels ICG-Pulsion wurde analog dem Technetiumverfahren die Detektionszeit exakt protokolliert. Neben Zeitpunkt der Injektion, Zeitpunkt des OP-Beginnes und Start der Detektion wurde auch der entsprechende Zeitpunkt der Lymphknotenexstirpation dokumentiert. Jeder Lymphknoten wurde als einzelner Lymphknoten erfasst. Dies bedeutete, dass zu jedem Lymphknoten eindeutig zugeordnet wurde, mit welchem Verfahren die Detektion erfolgt bzw. ob eine Detektion auch mit beiden Verfahren (Fluoreszenz und Technetium) möglich war.

2.8. Dokumentation der intraoperativen SLN Detektion

Die Dokumentation erfolgte unter Benützung eines eigens dafür erstellten Dokumentationsbogens (Abb. 18). Die Abbildung ist Bestandteil des Studienprotokolls der Firma CenTrial. Dokumentiert wurde die Darstellbarkeit von Lymphbahnen sowie die Darstellbarkeit von exstirpierten SN (Anzahl bei mehreren) mittels Fluoreszenzverfahren sowie der Radionuklidtechnik. Ziel war die Erfassung der mit den beiden Methoden detektierten SLN und eine entsprechende Zuordnung zu dem jeweiligen Detektionsverfahren. Damit bestand die Möglichkeit zu überprüfen, ob eine Detektion mit beiden Methoden gelang oder nur mit jeweils einer der beiden Nachweisverfahren. Gleichzeitig konnte die Anzahl der pro Patientin detektierten und exstirpierten SLN erfasst werden, aber auch die Gesamtzahl der detektierten und entnommenen SLN bezogen auf das diagnostische Verfahren. Damit konnte auch überprüft werden, ob es gelang nicht nur histopathologisch nicht tumorös befallene SLN zu finden, sondern auch karzinomatös befallene SLN.

Pulsion Medical Systems SE Study No.: PULSION-001 EudraCT No.: 2011-003194-28	Patient No.: [][][][] Visit 3 (Day 1) - Date of Surgery / Injection [][][] . [][][][] . [][][][][] D D M M M Y Y Y Y
---	--

Page 14 of 18

Surgery

Name of surgeon: (Please use capitals) _____

Time of surgery: (24h clock time) [][][] : [][][]
h h m m

Time of injection of ICG-Pulsion®: (24h clock time) [][][] : [][][]
h h m m

Number of injection points of ICG-Pulsion®: [][][]

Location of injection of ICG-Pulsion®: subdermal periareolar

Amount of injected ICG-Pulsion®: [][][] ml

Time of start of detection: (24h clock time) [][][] : [][][]
h h m m

Time of start of dissection: (24h clock time) [][][] : [][][]
h h m m

Identification of sentinel lymph nodes: yes no

Lymph node (LN)	Detection ICG		Detection Tc (Intensity target count / 10 sec)			Level	control scintigraphy	
	yes	no	yes	no	intensity		yes	no
LN 1								
LN 2								
LN 3								
LN 4								
LN 5								
LN 6								
LN 7								
LN 8								
LN 9								
ongoing								
sum								

Radioactivity in axilla after removal of all LN: [][][] counts / 10 sec

Fluorescence in axilla after removal of LN: yes no

Matching plausibility imaging / surgery (SLNB): yes no

Comment: _____

Centrial GmbH, Finale Version 1.1, 13.02.2012

Abb. 18: Protokoll zur operativen Entfernung aller mittels ICG und Tc detektierten SLN (Auszug aus Prüfplan)

2.9. Gezielte histologische Aufarbeitung der einzelnen entfernten SLN

Die histologische Aufarbeitung der einzelnen getrennt asservierten und gekennzeichneten SLN wurde entsprechend des angegebenen Detektionsverfahrens durchgeführt und dokumentiert. Korrelierend zu den histopathologischen Ergebnissen konnte eine Zuordnung getroffen werden, ob die Lymphknotendetektion szintigrafisch mittels Technetium oder mittels ICG oder mit beiden Methoden erfolgte.

Bei der Aufarbeitung der Sentinel-Lymphknoten wurden die üblichen Kriterien gemäß Verfahrensanweisung für die technische Durchführung der nuklearmedizinischen Wächterlymphknotendiagnostik angewandt und beachtet.

2.10. Erstellung einer Arbeitsanleitung für die praktische Durchführung entsprechend einer Lernkurve

Bei der praktischen Durchführung gemäß Prüfplan zeigte sich, dass die Detektion mittels Fluoreszenz im Vergleich zu dem standardisierten Vorgehen einer Technetiumdetektion entscheidend von verschiedenen Einflussvariablen abhängig war. Diese waren die Einstellung der Infrarotlichtkamera PDE, die Intensität der Raumbelichtung, das heißt die Helligkeit des Raumlichts, der Abstand von Kamera zum Operationsgebiet und verständlicherweise von dem Training des Operateurs im Umgang vor allen Dingen mit der PDE Kamera.

Um standardisierte Bedingungen zu erreichen, wurde ein entsprechendes Vorgehen erarbeitet und im Studienprotokoll erfasst (siehe Arbeitsanleitung praktisches Vorgehen im Anhang). Dabei zeigte sich, dass die Infrarotlichtkamera PDE am besten auf maximale Helligkeit eingestellt werden sollte und der Kontrast auf zwei bis drei Dioden. Die weitere optimierte Einstellung zur Detektion ergab sich durch eine weitere Regulierung über das Raumlicht.

Pro Patientin stand der fluoreszierende Farbstoff ICG in Form einer Durchstechflasche zur Verfügung mit jeweils 25 mg ICG. Der Farbstoff wurde mit 5 ml Aquadest zur Injektion aufgelöst.

Initial in der Erprobungsphase (Patientinnen wurden nicht im Rahmen der Studie ausgewertet), war 1 ml intradermal periareolär in den jeweils tumor-führenden Quadranten injiziert worden. In der Folge und mit Beginn der Datenerfassung waren 2 ml der Lösung und damit 10 mg ICG zur Injektion verwendet worden. Unmittelbar danach wurde die Injektionsstelle über 1 Minute massiert. Die Zeit von Injektion bis zur Hautinzisionsbeginn bzw. Beginn der Sentinel-Detektion wurde ebenfalls standardisiert festgelegt. In der Regel erfolgte die Injektion 15-20 Minuten vor der operativen SLN-Detektion. An dieser Stelle sei nochmals erwähnt, dass bei isoliertem Zugang zur Axilla, das heißt nicht über die Mammaumschneidungsfigur mit der SLN-Biopsie und Detektion begonnen wurde. Bei Zugang über eine mammäre Schnittführung (sowohl brusterhaltendes als auch ablatives Vorgehen) wurde bereits vor Beginn des mammären Eingriffs in Form der Hautumschneidung mit der Detektion der zur Axilla ziehenden Lymphbahnen begonnen. Dies wurde festgelegt, um ein streng standardisiertes Vorgehen bei dieser operativen Studie zu ermöglichen.

An praktischen Hinweisen wurde im Rahmen der Lernkurve erarbeitet, dass die Raumlicheinstellung immer ein Erkennen der Hautkonturen insbesondere auch der Areola ermöglichen sollte. Die Infrarotlichtkamera sollte möglichst im 90°-Winkel zur Haut gehalten und bewegt werden. Im praktischen Verlauf wurde bei der Exzision zunächst der mittels Technetium-markierte Sentinel entnommen. Vor Entnahme wurde überprüft, ob dieser auch entsprechend eine Fluoreszenz aufwies.

2.11. Erfassung der Arzneimittelsicherheit (Pharmakovigilanz)

Da der Fluoreszenzfarbstoff ICG zum Zeitpunkt der Studie und auch noch aktuell nur für die intravenöse Applikationen eine Arzneimittelzulassung besitzt, wurden im Rahmen der Studie nach Prüfplan der Firma CenTrial Parameter zur Dokumentation der Arzneimittelsicherheit erfasst.

Diese orientierten sich nach potenziell mit der Verabreichung von ICG in Zusammenhang stehenden Nebenwirkungen, wobei diese sich auf die bisher bekannten Nebenwirkungen, die im Rahmen einer i.v. Applikation in Erscheinung treten können orientierten.

Da dies nicht primär die Fragestellung der Promotion beinhaltete, erfolgte die Erfassung von potentiellen Nebenwirkungen in Form einer Überprüfung von Labordaten (Safety lab) und klinischen Daten wie Herz- Kreislaufparametren, dem Ausschluss allergischer generalisierter aber auch lokaler Reaktionen sowie die Beurteilung des Lokalbefundes nach Farbstoffinjektion. Dies erfolgte insbesondere unter dem Aspekt einer Hautpigmentierung bzw. anhaltender Tätowierung der Haut an der Injektionsstelle wie sie bei der Anwendung der blauen Farbstoffmethode anzutreffen ist. Die Auswertung und das Studienmonitoring erfolgten durch die Firma CenTrial. Wesentlicher Part war dabei die Überprüfung der Zurverfügungstellung der Studienmedikation und die korrekte Anwendung sowie die Entsorgung, bei der die jeweils patientenbezogene Zuordnung der Vials und verabreichte Dosierung überprüft werden konnte analog einer Pharmakonstudie. Dabei sei nochmals erwähnt, dass ICG nur für die intravenöse Applikation primär zugelassen ist. Die Indikationen beinhalten diagnostische Verfahren zur Erfassung von Herz-Kreislaufparametern sowie Datenerhebung zur Mikrozirkulationsdiagnostik (Messung des Herz-Zeit-Volumens und Schlagvolumens, Messung von zirkulierenden Blutvolumina und Messung der zerebralen Durchblutung). Weitere Einsatzgebiete stellen die Leberfunktionsdiagnostik (Messung der exkretorischen Leberfunktion) und die ophthalmologische Angiographie zur Messung der Aderhautdurchblutung dar. Für diese Indikationen werden in der Regel Dosierungen von 0,1–0,5 mg/kg Körpergewicht in Form einer Bolusinjektion verabreicht.

3. Ergebnisse

3.1. Tumorstadien

Zur Auswertung konnten die Daten von 105 Patientinnen berücksichtigt werden. Ein doppelseitiges Karzinom lag bei 5 Patientinnen vor.

Das Durchschnittsalter der Patientinnen betrug 57,5 Jahre. Fünf Patientinnen waren älter als 80 Jahre (81, 82 und 3 x 84 Jahre). Der BMI betrug bei 123 der primär erfassten Patientinnen <40, bei 120 Patientinnen <35 und bei 107 Patientinnen <30. Drei Patientinnen wiesen einen BMI >40 auf. Der Durchschnitts-BMI betrug 26 + 5,32. Die Tumorstadien unterschieden sich nicht von einem Durchschnittskollektiv, das im gleichen Zeitraum am Brustzentrum Tübingen außerhalb der Studie behandelt wurde (Tab. 2 Vergleichszahlen sind die Qualitätsdaten für das Brustzentrum Tübingen erhoben von OnkoZert). Dabei war das häufigste Tumorstadium im Gesamtkollektiv ein Tumorstadium pT2 in 43 Fällen, gefolgt von einem Tumorstadium pT1c in 42 Fällen. Ein Tumorstadium pT1a trat bei drei Patientinnen auf und ein Tumorstadium pT1b bei 21 Patientinnen. Insgesamt wiesen 17 Patientinnen ein ausgedehntes pTis auf oder ein pTmic (pTmic in vier Fällen, pTis in 13 Fällen) (Tab. 2).

Die Zusammenfassung der Tumorstadien pT1a, pT1b und pT1c, in der vorliegenden Studie bei insgesamt 66 Patientinnen vorkommend, korrelierte mit 61,2 % zu dem statistisch ermittelten Vergleichswert von 62,9 %. Damit konnte bestätigt werden, dass es sich um eine Verteilung analog eines Normalkollektivs handelte. Bei den invasiven Karzinomen fand sich ein Grading G1 in 53 %, ein Grading G2 in 45 % und ein Grading G3 in 32 %.

3.2. SLN-Detektion auf Patientinnen bezogen (Möglichkeit der Detektion von SLN pro Patientin)

Bei den 105 auswertbaren Patientinnen gelang mittels Technetium eine SLN-Detektion bei 103 Patientinnen und entsprach damit eine Detektionsrate von 98 %. Mittels ICG gelang die Detektion bei 93 Patientinnen, was einer Detektionsrate von 89 % entspricht. Eine SLN-Detektion mit beiden Methoden gelang bei 91 der 105 Patientinnen.

Während ein Nachweis mit ICG und nicht mit Technetium bei zwei der 105 Patientinnen gelang, zeigte sich bei 12 Patientinnen die Diskrepanz dahingehend, dass mittels Technetium eine Detektion möglich war aber nicht mittels ICG (Tab. 6).

Tab. 6: Sentinel-Lymphknoten-Detektion mit Technetium und Indocyaningrün bezogen auf die Anzahl untersuchter Patientinnen

Gesamtzahl erfasster Patientinnen zur SLN Detektion	Anzahl Patientinnen
Untersucht und SN detektiert	n = 105 Pat.
davon mit Tc detektiert	n = 103 (98 %)
davon mit ICG detektiert	n = 93 (89 %)
SN Nachweis mit ICG und Tc	n = 91 / 105
SN Nachweis mit ICG und nicht Tc	n = 2 / 105
SN Nachweis mit Tc und nicht ICG	n = 12 / 105

In der Folge wurde die Anzahl der Lymphknoten pro Patientin entsprechend dem Detektionsverfahren ausgewertet. Untersucht und aufgelistet wurden dabei die Anzahl der pro Patientin detektierten SLN in Abhängigkeit der einzelnen Verfahren. Aufgelistet wurde dabei zusätzlich auf das entsprechende Detektionsverfahren bezogen, wie häufig ein, zwei oder drei Sentinel detektiert werden konnten. Für das Technetiumverfahren konnte 66 Mal ein Lymphknoten, 32 Mal konnten zwei Lymphknoten und in sieben Fällen drei Lymphknoten detektiert werden. Für ICG konnten in 63 Fällen ein Lymphknoten, in 23 Fällen zwei und in sieben Fällen drei Lymphknoten detektiert werden. Mit beiden Verfahren konnten 64 Mal ein Lymphknoten, 22 Mal zwei und ebenfalls in sieben Fällen drei Lymphknoten nachgewiesen werden (Tab. 7).

Tab. 7: Anzahl der pro Patientin detektierten und exstirpierten Lymphknoten (ein, zwei und drei SLN) in Abhängigkeit der jeweiligen Detektions-Methode

	Anzahl Pat (N)		
	Technetiumverfahren	ICG	Technetium + ICG
1 SLN detektiert	66	63	64
2 SLN detektiert	32	23	22
3 SLN detektiert	3	7	7

Die Anzahl der pro Patientin mit dem jeweiligen Verfahren detektierten SLN sind in den folgenden Säulengraphiken aufgeführt. Dabei wurde mittels Tc am

häufigsten nur ein SLN detektiert mit knapp 65 % und zwei SLN in knapp 33 %. Die SLN Darstellung mit ICG wies ähnlich wie die Detektion mittels Tc eine hohe Rate mit nur einem entdeckten SLN auf, allerdings wurde entgegen der Tc-Technik die Zahl in der Gruppe in der 3 SLN pro Patientin gefunden wurden größer. (Abb. 19).

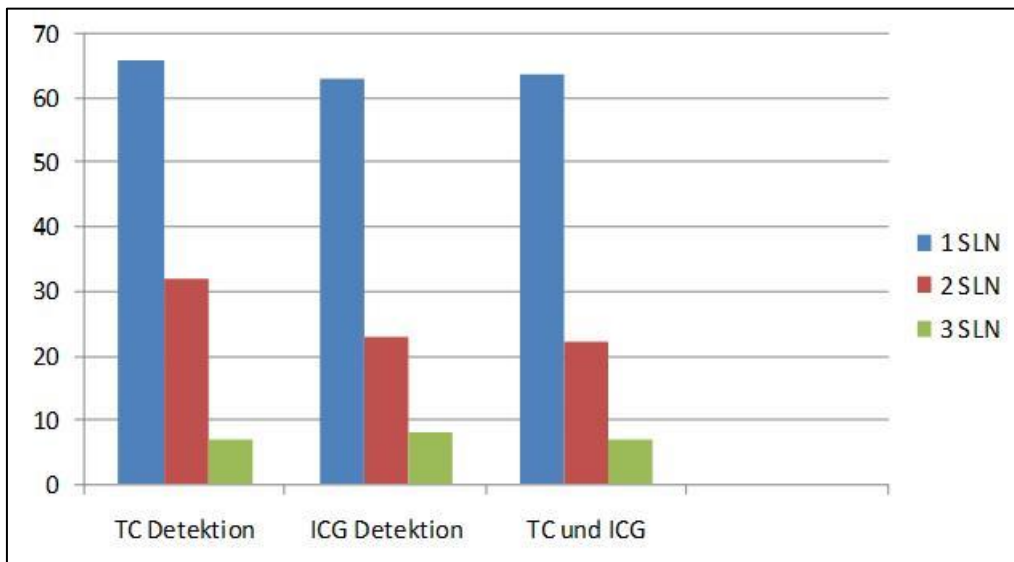


Abb. 19: Anzahl der pro Patientin detektierten Lymphknoten bezogen auf die einzelnen Verfahren - Technetium (Tc), Fluoreszenz (ICG) und beide Verfahren in Kombination (Tc und ICG) eingeteilt nach 1,2 und 3 detektierten SLN

3.3. SLN-Detektionsrate bezogen auf die Gesamtzahl exstirpierter Lymphknoten in Abhängigkeit der angewandten Methode

Insgesamt wurden 162 Lymphknoten histopathologisch gefunden und analysiert (Tab. 8). Dabei konnten 157 SLN mittels Technetium und 138 SLN mittels ICG detektiert werden. Die Anzahl der Lymphknoten, die mit beiden Methoden detektiert werden konnten, betrug 133. Dies entspricht einer Sensitivität von 0,96 Konfidenzintervall (CI: 0,92, 0,99). Der positive predictive value bzw. Vorhersagewert beträgt 0,85 (CI: 0,78,0,9). Die Spezifität betrug dabei 0,82 Konfidenzintervall (CI: 0,75, 0,88).

Tab. 8: Anzahl der insgesamt detektierten und exstirpierten Lymphknoten (SLN) in Abhängigkeit der Methode

SLN	N (Anzahl)
Gesamt exstirpierte SLN	162
Mittels Tc detektierte SLN	157 (96 %)
Mittels ICG-detektiert SLN	138 (85 %)
Mittels ICG und Tc detektierte SLN	133 (82 %)
Sensitivität	0,96 CI: (0,92, 0,99)
Positiver Vorhersagewert	0,85 CI: (0,78, 0,9)
Spezifität	0,82 CI: (0,75, 0,88)

In einem weiteren Schritt wurde untersucht, ob es Unterschiede in den Detektionsraten gibt bzgl. der Detektion des ersten Lymphknotens und des sogenannten Folgelymphknotens, d. h. des zweiten SLN. Dies war möglich, da in den Protokollen die Detektion chronologisch aufgeführt wurde. Dabei ergab sich für den ersten SLN (exstirpiert wurden insgesamt 111) eine Anzahl von 109 für die Tc-Markierung und 97 für das ICG-Verfahren. Dies entspricht einer Sensitivität von 0,98 (CI: 0,93, 1) und einem positiven Vorhersagewert von 0,87 (CI: 0,79, 0,93). Die Spezifität beträgt dabei 0,86 (CI: 0,78, 0,92).

Betrachtet man den zweiten SLN (hier wurden insgesamt 42 exstirpiert) ergab sich für Technetium eine Zahl von 41, für ICG-Pulsion eine Zahl detektiertes Lymphknoten von 32. Mit beiden Verfahren konnten 31 Lymphknoten detektiert werden. Dies entspricht einer Sensitivität von 0,97 (CI: 0,84, 1) und einem positiven predictive value (Vorhersagewert) von 0,76 (CI: 0,6, 0,88).

Dabei erwies sich die Technetium-Methode für die Detektion weiterer SLN insbesondere für den zweiten Lymphknoten dem ICG-Verfahren deutlich überlegen (Tab. 9).

Tab. 9: Charakterisierung der entnommenen SLN in Abhängigkeit von der Reihenfolge der Detektion (erster SLN – zweiter SLN) bezogen auf die jeweilige Detektions-Methode

Charakterisierung des ersten SLN	N(Anzahl)
Gesamte Anzahl	111
Mittels Tc-detektierte SLN	109
Mittels ICG- detektierte SLN	97
Mittels ICG- und Tc-detektierte SLN	95
Sensitivität	0,98 CI (0,93, 1)
Positiver Vorhersagewert	0,87 CI (0,79, 0,93)
Spezifität	0,86 CI (0,78, 0,92)
Charakterisierung des zweiten SLN	N(Anzahl)
Gesamte Anzahl	42
Mittels Tc-detektierte SLN	41
Mittels ICG-detektierte SLN	32
Mittels ICG- und Tc-detektierte SLN	31
Sensitivität	0,97 CI (0,84,1)
Positiver Vorhersagewert	0,76 CI (0,6,0,88)
Spezifität	0,74 CI (0,58,0,86)

3.4. Analyse der mit ICG fehlenden Detektion im Vergleich zu Detektion mit Tc in Abhängigkeit des Body Maß Index (BMI)

Unter Berücksichtigung der limitierten Eindringtiefe des Fluoreszenzverfahrens wurden die 12 Patientinnen, bei denen eine Markierung mit Technetium gelang mit ICG allerdings nicht gelang (n=12), nochmals analysiert. Dabei zeigte sich, dass zwei der Patientinnen mit fehlender ICG-Detektion einen BMI von >40 aufwiesen (BMI 40,4 bzw. 40,9).

Unter diesem Aspekt wurden nochmals alle detektierten Lymphknoten in Abhängigkeit des BMI der jeweiligen Patientinnen überprüft. Eine Auflistung befindet sich in Tabelle 10. In den einzeln aufgelisteten Subgruppen wurden die Patientinnen nach ermitteltem BMI aufgelistet. Dabei wurde eine Gruppeneinteilung vorgenommen gemäß eines BMI <40, <35 und <30. Dabei zeigte sich bezüglich der Detektierbarkeit mittels Technetium kein Unterschied in den einzelnen Gruppen.

Im Gesamtkollektiv waren die Detektionsraten 0,86 vs. 0,95 (mittels ICG detektiert bzw. Technetium). Die Detektionshäufigkeit mittels ICG zeigte allerdings in Abhängigkeit des BMI doch geringe Unterschiede.

Die Detektionsrate für ICG ergab bei einem BMI <40 einen Wert von 0,890, bei einem BMI <35 einen Wert von 0,893 und bei einem BMI <30 einen Wert von 0,880(Tab. 10)

Tab. 10: Subgruppenanalyse - Anzahl detektierter Lymphknoten bei intradermaler Applikation (aufgelistet in Abhängigkeit des BMI) für die jeweiligen Detektionsverfahren

Gesamtkollektiv	ICG	Tc	ICG+Tc
Gesamte Anzahl SLN	162	162	162
Ja	138	157	133
Nein	23	5	27
Fehlende Angabe	1	0	2
Häufigkeit	0.860	0.951	0.837
BMI < 40			
Anzahl	155	155	155
Ja	138	150	133
Nein	17	5	22
Fehlende Angabe	2	2	0
Häufigkeit	0.890	0.968	0.860
BMI < 35			
Anzahl	149	149	149
Ja	133	144	129
Nein	16	5	21
Fehlende Angabe	1	1	0
Häufigkeit	0.893	0.966	0.860
BMI < 30			
Anzahl	134	134	134
Ja	118	131	116
Nein	16	3	19
Fehlende Angabe	1	1	0
Häufigkeit	0.880	0.9784	0.859
BMI > 40 n= 3		Keine SLN Detektion	

3.5. Detektionsraten bei histopathologischem Tumorbefall der SLN

Bei den Patientinnen, bei denen eine SLN-Detektion mittels ICG und Technetium gelang (n=91), konnte bei 25 Patientinnen ein Tumornachweis, d.h. ein tumorbefallener SLN nachgewiesen werden. Bei zwei Patientinnen, bei denen eine SLN-Detektion ausschließlich mit ICG und nicht mit Technetium gelang, war in keinem der beiden Fälle ein Tumornachweis zu finden. Bei 12 Patientinnen, bei denen eine SLN-Detektion mit Technetium und nicht mit ICG gelang, war in zwei Fällen der SLN tumorbefallen (Tab. 11).

Tab. 11: Detektionsrate von SLN mit histopathologischem Tumorbefall in Abhängigkeit von der Detektionsmethode bezogen auf die Anzahl der untersuchten Patientinnen (patientinnenbezogen)

Gesamtzahl untersuchter Patientinnen	Anzahl Patientinnen	Häufigkeit eines histopathologischer LK Befall
SLN Detektion mit ICG und Tc	n = 91	N+ in n = 24
SLN Detektion mit ICG nicht mit Tc	n = 2	N+ in n = 0
SLN Detektion mit Tc nicht mit ICG	n = 12	N+ in n = 2

Betrachtet man die Anzahl der positiven SLN (mit Tumorbefall) und vergleicht sie mit den jeweils zur Detektion führenden Verfahren, so konnten bis auf einen positiven SLN alle mit Tc erfasst werden (23 von 24 befallenen SLN) hingegen mit ICG nur 20 der 24 positiven SLN (Tab. 12).

Tab. 12: Erfassung der Anzahl von Patientinnen mit tumorbefallenen exstirpierten Lymphknoten (SLN) in Abhängigkeit von dem Detektionsverfahren (Tc, ICG)

Tumorbefallenen SLN	N (Anzahl)
Gesamt tumorbefallene SLN	24
Mittels Tc-detektierte SLN	23
Mittels ICG detektierte SLN	20
Mittels ICG- und Tc- detektierte SLN	19
Sensitivität	0,95 CI: (0,75, 1)
Positiver Vorhersagewert	0,83 CI: (0,61, 0,95)
Spezifität	0,79 CI: (0,58, 0,93)

3.6. Übersicht über die erfassten Detektionsraten

Im Rahmen der Studie konnten insgesamt 162 SLN detektiert werden. Mittels ICG konnten insgesamt 138 Lymphknoten markiert werden was, bezogen auf die Gesamtzahl aller detektierten Lymphknoten, einer Rate von 85 % entspricht. Für Tc betrug die Detektionsrate 96 % (n=157). Die Anzahl der mittels beider Verfahren detektierten SLN betrug 133 und gelang damit in 82 %.

Dies entspricht einer Sensitivität für die Tc-Methode von 0,96 bei einem Konfidenz-Intervall (CI von 0,92 bzw. 0,99). Während nahezu alle SLN mit Tc detektiert werden konnten unabhängig von einem potentiellen Tumorbefall gelang dies mit der ICG Methode nur in 85 % der Tc detektierten SLN. Der positive Vorhersagewert betrug damit 0,85 (CI 0,78–0,9) und die Spezifität lag damit bei 0,82. Damit konnte gezeigt werden, dass ICG als alleiniges Verfahren nur 85 % der mittels Tc detektierte SLN erkennen lässt. Eine weitere Einschränkung zeigte sich bei der Detektion nachgeordneter SLN. Bei der Detektion eines zweiten SLN konnte mit der Fluoreszenz nur in 76 % der SLN gefunden werden während mit Tc dies in 98 % gelang. Kein Einfluss auf die Detektion mittels Fluoreszenz konnte durch die Zeitschiene zwischen Injektion des ICG und dem Beginn der Detektion nachgewiesen werden. Gemäß Studienprotokoll betrug das Zeitintervall von Injektion des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes bis zum Beginn der SLN-Detektion mindestens 10 Minuten, maximal 25 Minuten, gemäß dem vorgegebenen Protokoll und in Abhängigkeit des brustchirurgischen operativen Vorgehens (ablatives Vorgehen bzw. brusterhaltende Intervention bzw. Axilla-Operation über eigene Schnittführung oder über die mammachirurgische Intervention). Die Zeit vom Beginn der Detektion bis zur Sentinelexstirpation betrug im Durchschnitt 8–10 Minuten. Die Daten wurden gemäß dem vorliegenden Dokumentationsprotokoll erfasst (Anlage).

3.7. Erfassung der Arzneimittelsicherheit

Unter Berücksichtigung der aktuellen Zulassung von ICG (primär nur für intravenöse Applikation) mussten im Rahmen der vorliegenden Studie gleichzeitig Arzneimittelnebenwirkungen im Sinne einer Phase-II-Studie für die intradermale bzw. subkutane Applikation erfasst werden. Die im Rahmen der intradermalen Injektion von ICG aufgetretenen Ereignisse wiesen generell nur einen geringen Ausprägungsgrad auf, nämlich nur Grad I oder II und waren nicht in direktem Zusammenhang mit der intradermalen Injektion zu sehen. Beschrieben wurden leichte Übelkeit, Erbrechen, diskreter Anstieg der Leukozyten bzw. eine Tachykardie Grad II. Für die intradermale Verabreichung war insbesondere wesentlich, dass sich keine Hautveränderungen lokal zeigten in Form von allergischen Reaktionen oder anhaltenden Tätowierungen der Haut. Die intradermale Injektion kann damit als sicheres und in jedem Falle vertretbares Verfahren angesehen werden. Im Vergleich zur intravenösen Injektion wies die Applikationsform eine höhere Arzneimittelsicherheit auf. Neue, bislang nicht bekannte Nebenwirkungen traten bei dieser Verabreichungsform nicht auf (Tab. 13). Alle in Zusammenhang mit der Applikation beobachteten Symptome wurden als nicht therapiebedingt angesehen. Sie waren voll reversibel und erforderten keine Intervention.

Tab. 13: Aufgetretenen Ereignisse im Rahmen der Studie bei intradermaler Injektion von ICG (Erfassung der Arzneimittelsicherheit)

Screening-Nr.	Symptom	anhaltend	ernst	Intensität	Therapiebedingt	Intervention erforderlich	Outcome
063	Tachykardie Grad 2	0	Nein	Moderat	nein	nein	Komplett zurück gebildet
063	Erbrechen Grad 1	0	Nein	Mild	nein	nein	Komplett zurück gebildet
063	Übelkeit Grad 1	0	Nein	Mild	nein	nein	Komplett zurück gebildet
083	Schmerzen bei Redon-Drainage	0	Nein	Moderat	nein	nein	Komplett zurück gebildet
111	Übelkeit	0	Nein	Moderat	nein	nein	Komplett zurück gebildet
111	Erbrechen	0	Nein	Mild	nein	nein	Komplett zurück gebildet
126	Leukozytenerhöhung Grad 2	1	Nein	Moderat	nein	nein	Komplett zurück gebildet

4. Diskussion

Die histologische Abklärung der Axilla erfolgt bei der operativen Therapie des Mammakarzinoms, soweit klinisch kein Hinweis auf eine Metastasierung besteht, ausschließlich durch die Methode der SLNB insbesondere beim frühen Mammakarzinom [(Kim et al. 2006)]. Dadurch ist eine unnötige axilläre Lymphonodektomie, d.h. die Entfernung nicht metastatisch befallener Lymphknoten mit entsprechender Sekundärmorbidität, insbesondere dem Auftreten eines Lymphödems, nicht mehr erforderlich [(Purushotham et al. 2005)]. Nur bei metastatischem Befall der SLN sollte in Abhängigkeit weiterer tumorspezifischer Charakteristika eine axilläre Lymphonodektomie diskutiert werden [(Hubalek et al. 2012)]. Die höchsten Detektionsraten weisen dabei die blaue Farbstoffmethode in Kombination mit der Radionuklidtechnik auf, mit gleichzeitig einer geringen Falsch-negativ-Rate von nur 9,8 % [(Lyman et al 2005), (Sardi et al. 2002)]. Der Beweis, dass die SLNB-Methode im Vergleich zu einer kompletten axillären Lymphonodektomie bei nodal-negativen Patientinnen die gleiche Aussagefähigkeit und therapeutische Sicherheit zeigt, konnte in großen Studien bestätigt werden [(Benson, Querci Della Rovere 2007), (Krag et al. 2010)]. Dabei zeigte sich in einem medianen Beobachtungszeitraum von 97 Monaten kein Unterschied bezüglich der Häufigkeit eines lokoregionären Rezidivs bzw. auch bezüglich des Gesamtüberlebens bei Patientinnen mit metastatischem Lymphknotenbefall zwischen der SLNB-Methode und einer kompletten axillären Lymphonodektomie [(Krag et al. 2010)]. Bei der alleinigen blauen Farbstoffmethode wurden in den vorliegenden Studien numerisch eine größere Anzahl an Lymphknoten entfernt, nämlich 4-5, während hingegen bei der Kombination, bestehend aus Technetium und blauem Farbstoff, d.h. im kombinierten Verfahren, in der Regel nur 2-3 Lymphknoten entfernt wurden [(Benson, Querci Della Rovere 2007)]. Bewährter Standard mit der höchsten Sensitivität sowie Spezifität war über lange Zeit etabliert die Kombination aus Technetium und blauem Farbstoff [(Teal et al. 2005)].

Auf der Suche nach einem weiteren Verfahren ggf. mit dem Ziel auf Radioaktivität verzichten zu können aber mit entsprechend hoher Sensitivität und auch Spezifität fand die Fluoreszenztechnik ihren Einsatz [(Samaroani et al. 2015), (Sharma et al. 2007), (Skvara et al. 2011), (Solomon et al. 2012), (Sugie et al. 2010), Tagaya et al. 2008), (Tagaya et al. 2011), (Verbeek et al. 2014)]. Dabei zeigte sich bei der Wahl des Fluoreszenzfarbstoffes (ICG) das Problem, dass ICG zwar über 50 Jahre klinisch in der Regel zur intravenösen Diagnostik bereits eingesetzt wurde, es allerdings noch keine relevanten Daten zur Arzneimittelsicherheit gab für eine intradermale oder auch subkutane Injektion. In einigen wenigen tierexperimentellen Studien [(Abe et al. 2010), (Bäumler et al. 2006), (Hirche et al. 2010), (Interdisziplinäre S3-Leitlinie 2017)] waren zwar nie toxische Reaktionen beschrieben, dennoch lagen zum Zeitpunkt der Untersuchung keine ausreichenden Erfahrungen vor. Da die subkutan bzw. intradermal verabreichten Dosierungen deutlich niedrigere Konzentrationen aufweisen im Vergleich zu systemisch verabreichten Dosierungen (in der Regel intravenös) besteht die Annahme, dass die lokale Anwendung deutlich gefahr- und problemloser zu sein scheint. Eine insbesondere in Japan eingesetzte Off-label-Injektion in die Haut hatte gemäß der vorliegenden Literatur zu keinen Nebenwirkungen geführt. Während einige Studien keine Nebenwirkungen oder Probleme beschrieben [(Aoyama et al. 2011), (Ballardini et al. 2013), (Eidtmann 1999), (Veronesi et al. 2003)], konnten auch durch weitere Studien mit einer ICG-Injektion direkt in die Haut [(Kim et al. 2006), (Samaroani et al. 2015)] keine Komplikationen oder SAEs (Serious Adverse Events) beschrieben werden. Auch bei einem Einsatz von ICG bei neun Patientinnen zur Erfassung des lymphatischen Rückflusses im Sinne einer Off-label-Indikation zur Planung der Anlage von Anastomosen zwischen Lymphbahnen und Venensystem waren im Rahmen eines Follow up von 17 Monaten keine Nebenwirkungen aufgetreten [(Giuliano et al. 1994)].

Eine weitere Studie konnte zeigen, dass bei Paravasaten nach intravenöser Applikation eine leichte Hautkoloration auftrat, die allerdings nach einigen Tagen nicht mehr nachweisbar war [(Abe et al. 2011)].

Neben der Frage nach Toxizitäten und problemloser intradermalen bzw. subkutanen Injektionen war die eigentliche Frage, ob die Fluoreszenzmethode eine adäquate Darstellung des Sentinel-Lymphknotens ermöglicht im Vergleich oder zunächst unterstützt, d.h. additiv zur Radionuklid-Darstellung.

Initial waren es nur kleine Patientenzahlen mit verschiedenen Studienansätzen, die ausschließlich mit der Fluoreszenztechnik untersucht wurden. Die Studien wiesen dabei zunächst nur Fallzahlen von 43 bzw. 47 Patientinnen auf [(Hirche et al. 2011), (Hirche et al. 2010), (Mieog et al. 2011), (Murawa et al. 2009)].

Die weiteren Studienansätze zur Fluoreszenztechnik waren relativ unterschiedlich konzipiert. Während in einigen Studien ICG als alleiniges Verfahren [(Samorani et al. 2015), (Verbeek et al. 2014)] zum Einsatz kam, waren es zunehmend auch Studienansätze, die ICG in Kombination mit Technetium oder auch mit der blauen Farbstoffmethode einsetzten [(Guo et al. 2014)]. In weiteren Studien wurde die Fluoreszenz auch im Vergleich mit den beiden etablierten Verfahren, d.h. Technetium und blauer Farbstoffmethode überprüft [(Ballardini et al. 2013), (Hojo et al. 2010), (Polom et al. 2012)]. Mit der Fragestellung möglicherweise zukünftig auf Technetium verzichten zu können, wurden Studien durchgeführt, die gemäß Studiendesign das Fluoreszenzverfahren mit dem Technetium als Standardmethode verglichen.

In der Literatur fanden sich dabei Detektionsraten für ICG im Vergleich zur Technetium-Methode von 94–100 % nach intradermalen aber auch subdermalen Applikation [(Abe et al. 2011), (Kitai et al. 2005), (Murawa et al. 2009), (Sugie et al. 2010)]. Allerdings fiel auf, dass bezogen auf die Gesamtzahl aller mittels Fluoreszenz detektierter SLN pro Patientin sich eine höhere Anzahl an Lymphknoten zeigte. Dies würde für eine niedrigere Spezifität sprechen, da in der Regel ja nur der eigentliche SLN bzw. maximal eine Sentinelgruppe entfernt werden soll. Die Daten der vorliegenden Untersuchung zeigten eine gute Korrelation mit einigen Daten der Literatur bei einer Detektionsrate für Technetium von 98 % und für ICG mit einer Rate von 89 % und bei einem im Vergleich zu den meisten Studien doch größerem Patientenkollektiv von 105 Patientinnen.

Allerdings ist eine Vergleichbarkeit nur eingeschränkt möglich, bedingt durch verschiedene Studienansätzen und in der Regel nicht beschriebene technische Verfahrensweisen bei der praktischen Durchführung. Daraus resultieren unterschiedliche Detektionsraten, die von 74 bzw. 75 % [(Troyan et al. 2009)] bis zu 100 % reichen [(Abe et al. 2011), (Aoyama et al. 2011), (ICH Topic E9 1998), (Rangioni 2003)]. Allerdings fällt auf, ohne dass es hierzu eine schlüssige Erklärung gibt, dass in den zitierten Studien die höchsten Detektionsraten bei den kleinsten Patientenkollektiven von im Durchschnitt 25-50 Patientinnen beschrieben wurden. Bei großen Patientenkollektiven von 172 Patientinnen fanden sich hingegen eher niedrige Detektionsraten von 74 % bzw. 50 %. Eine Vergleichbarkeit ist allerdings auf Grund der verschiedenen Studienansätze schwer herzustellen. Die höchsten Detektionsraten zeigten sich in den Studien, in denen alle drei Verfahren eingesetzt wurden [(Hirche et al. 2010), (Veronesi et al. 2003)].

Diese Zahlen erfassten die Anzahl detektierter SLN bezogen auf die Anzahl untersuchter Patientinnen. Ergänzend wurde auch die Anzahl der insgesamt detektierten und exzidierten Lymphknoten erfasst. Diesbezüglich konnte in einer Studie von Wishart bei 100 Patientinnen eine Rate von 100 % für die mittels ICG detektierten Lymphknoten gefunden werden, mittels ICG und Technetium eine Rate von 77,3 % [(Wishart et al. 2012)]. In Zahlen bedeutete dies, dass alle exstirpierten Lymphknoten, nämlich 201, mittels ICG angefärbt waren und damit detektiert waren, mit Technetium alleine nur 156 SLN detektiert wurden. Wie die durchschnittliche Zahl detektierter SLN pro Patientin sich beliefe kann dabei nicht ersehen werden. Die Ergebnisse in der Literatur lassen vermuten, dass die ICG-Methode eine geringere Spezifität zur Detektion des SLN aufweist. Die eigenen Zahlen zeigen eine Detektion mit ICG von 138 Lymphknoten bei insgesamt 162 detektierten und exstirpierten SLN, gleichzeitig eine Detektionsrate mit Technetium von 157 der 162 exstirpierten Lymphknoten [(Grischke et al. 2015)]. Dabei konnte auch gezeigt werden, dass die höchsten Detektionsraten bei der Detektion des ersten SLN zu finden sind und deutlich niedrigere Detektionsraten für den zweiten und dritten SLN gefunden werden konnten.

Vergleichsdaten hierzu sind in der Literatur nicht zu finden. Bei unspezifisch und zu hohen Detektionsraten läuft man Gefahr, zu viele Lymphknoten zu entfernen mit den für die komplette axilläre Lymphonodektomie beschriebenen Komplikationen insbesondere dem Lymphödem. Dies würde dem Sentinelprinzip und der Definition widersprechen. Betrachtet man die vorliegenden Vergleichsstudien mit den hohen Detektionsrate, so findet sich zumindest bei einer Studie eine mit ICG detektierte SLN-Anzahl mit 5,4 SLN und mit 2,3 SLN für die blaue Farbstoffmethode. Daraus lässt sich schließen, dass ICG in dieser Studie eine hohe Sensitivität aber keine adäquate Spezifität aufwies.

Um eine Ungleichheit in der Patientenverteilung (BIAS) auszuschließen, wurden in der vorliegenden Studie die Tumorstadien von den Studienpatientinnen mit den Tumorstadien der Patientinnen verglichen, die im gleichen Zeitintervall eine operative Therapie an unserem Zentrum erhielten. Wie die Auflistung zeigen konnte, ergaben sich dabei keine Unterschiede in den einzelnen Tumorstadien. Damit konnte nochmals bestätigt werden, dass es sich bei den untersuchten Patientinnen ausschließlich um eine Normalverteilung bezüglich der Tumorstadien handelte.

5. Abschließende Beurteilung des ICG-Verfahrens

Im Kontext kann nochmals auf die Heterogenität der in der Literatur dargestellten Studien hingewiesen werden. Die Studien entstanden zwischen 1999 und 2013. Die einzelnen Fragestellungen der Studien, aber auch die Methodik zeigte deutliche Unterschiede [(Huttermann et al. 2011), (Jonak et al. 2011), (Zhang et al. 2016)]. Einsatz fand ICG ohne bzw. an Albumin gebunden, die Applikation erfolgte teilweise intradermal oder subkutan [(Heuveling et al. 2012)]. Für den Ort der Injektion findet man unterschiedliche Bezeichnungen wie periareolär oder auch subareolär. Die Detektionsraten für Technetium (als alleiniges Verfahren) variierten von 85–100 %. Die Sensitivität für ICG alleine betrug im Minimum 73,8 % und im Maximum 100 %. Bei den vorliegenden Untersuchungen gab es erhebliche Unterschiede bzgl. der gesamt untersuchten Patientenzahl, bei den angewandten Verfahren, entsprechend auch bei dem definierten Studienziel. Die Patientenzahlen rangierten von 18 Patientinnen (in zwei Studien) bis 212 in einer Studie aus 2011 und sogar 501 in einer Studie aus 2012. Der Durchschnittswert lag allerdings bei 40 Patientinnen. Die Sensitivitätsraten wurden meist für ICG allein angegeben. Hier rangierten die Werte von 73,8-100 %. Mehr als die Angaben zur Sensitivität war in den einzelnen Arbeiten die Anzahl der pro Patientin detektierten Lymphknoten von Relevanz. Hier wurden im Mittel 1,45 Lymphknoten beschrieben, bis max. 5,4 Lymphknoten. Intraindividuelle Vergleiche zwischen den einzelnen Verfahren lagen hier nicht vor.

In der vorliegenden Untersuchung betrug die Detektionsrate für ICG 89 %. Die die Anzahl der im Mittel mittels ICG detektierten Lymphknoten pro Patientin reichte von 1,7 bzw. 1,9 und im Maximum 3,7 Lymphknoten.

Die verschiedenen Fragestellungen, die unterschiedlichen Studienansätze aber auch unterschiedliche Techniken sind möglicherweise eine Erklärung dafür, dass sich die ICG-Fluoreszenz-Technik bislang nicht klinisch als fester integraler Bestandteil bei der SLN-Detektion etabliert hat.

Nicht berücksichtigt werden kann bei den vorliegenden Studien die unterschiedliche Sensitivität der einzelnen angewandten Kameras zur Detektion, aber auch eine gewisse Lernkurve, die bei der Etablierung der Detektion mittels Technetium ebenfalls erforderlich war. Wesentlich für die Sicherheit und Validität des Verfahrens ist generell eine Detektierbarkeit von SLN bei guter Reproduzierbarkeit der jeweiligen Methode. Dabei zeigte sich bei 105 Patientinnen in der vorliegenden Studie bei zwei Patientinnen ein fehlender Sentinel-Nachweis mit Technetium. Bei beiden Patientinnen konnte allerdings mittels ICG der Sentinel gefunden werden. Im Gegensatz dazu war bei 12 Patientinnen mit Technetium der SLN detektierbar und nicht mit ICG. Der Einsatz beider Verfahren komplementär hatte eine 100 %ige Sicherheit ergeben. Die nochmalige Betrachtung der Detektion von SLN, die tumorös befallen waren, zeigte bei den beiden mit ICG und nicht mit Technetium detektierten Lymphknoten in keinem Falle einen Tumornachweis. Bei dem mit Technetium detektierten Lymphknoten und fehlender ICG-Detektion hatte sich bei zwei Patientinnen der 12 untersuchten Patientinnen allerdings ein Metastasen-Nachweis ergeben. Eine weitere Analyse, ob es sich dabei um ein generell technisches Problem handelte oder sich als Untersucher-abhängig erwies, kann nicht abschließend beurteilt werden. Möglicherweise war ein kompletter Tumorbefall der SLN in den beiden genannten Fällen die Ursache für eine fehlende Darstellbarkeit mit ICG, allerdings war dies mit Tc möglich. Eine wesentliche Bedeutung kommt deshalb der Lernkurve und auch der Qualität und Weiterentwicklung der Kamera zur Detektion der Fluoreszenz zu.

Bei der Erarbeitung des spezifischen intraoperativen Vorgehens zur SLN-Detektion mit ICG zeigten sich doch zahlreiche Einflussvariablen wie Helligkeit des Raumlichtes, Einstellung der Kamera und Führen der nicht ganz leichten Kamera (FDE). Als weitere Einflussvariable konnte der Einfluss des BMI gezeigt werden. Dies ist in Zusammenhang mit der Eindringtiefe der ICG-Detektion bei der Fluoreszenz zu sehen.

Bei den zitierten Studien fanden sich keine Detailangaben zur technischen Durchführung, was allerdings ein wesentlicher Faktor bei der Detektion des SLN mittels ICG ist und damit der wesentliche Faktor für die Validität der Methode insbesondere zur Bestimmung von Sensitivität und Spezifität.

Zu einer weiteren Validierung der Methode sollten verbesserte Kamerasysteme zur Verfügung stehen, die auch ein anwenderfreundliches Handling garantieren und ein besser standardisiertes Vorgehen ermöglichen.

Bezüglich der intradermalen oder subkutanen Applikation von ICG entgegen der eigentlichen Zulassung zur intravenösen Verabreichung stellt sich der Fluoreszenzfarbstoff als sicher und gut tolerabel dar. Nebenwirkungen die potentiell, wenn auch sehr selten bei der i.v. Gabe beobachtet werden konnten, konnten in der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden. Es zeigten sich auch keine Laborveränderungen. Eine leichte Hautverfärbung, die sich unmittelbar nach der Injektion vereinzelt maximal bei 3-4 Patientinnen zeigte und maximal einige Stunden nach der Injektion noch anhielt, musste nicht weiter verfolgt werden. Hautnekrosen analog eines in der Literatur beschriebenen case reports zeigten sich in der vorliegenden Untersuchung nicht [(Jaffer et al. 2008)].

6. Stellenwert der Fluoreszenztechnik und kritische Beurteilung

Die Daten der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die untersuchte Fluoreszenztechnik mittels ICG zur Sentinel-Detektion beim Mammakarzinom aktuell nicht als valide Technik einzuordnen ist im Vergleich zu dem Standardverfahren der Sentinel Markierung mittels Technetium.

Ursachen sind aktuell nicht zu standardisierende Einflussvariablen, die im praktischen Einsatz zu berücksichtigen sind, wie Einstellung von Raumlicht und Kamera, Qualität der Kamera und Erfahrung des Operateurs in der Sentinel-Technik. Dies zeigt die erforderliche Erarbeitung des praktischen Vorgehens mittels einer Lernkurve. Dies beinhaltet auch eine umfangreiche Erfahrung beim Einsatz der Sentinel-Technik generell.

Sinn und Ziel der Etablierung der Sentineltechnik beim Mammakarzinom mittels Radionuklidverfahren

Bei der Etablierung der Sentinel-Technik mittels Radionuklid beim Mammakarzinom war das Ziel, bei der Abklärung und operativen Therapie des Nodalstatus auf die axilläre Lymphonodektomie als Routineeingriff verzichten zu können. Als Rationale für diese Fragestellung galt das Design der späteren Kieler Studie (Abb. 20). Im Rahmen einer Feasibility Untersuchung von 124 Patientinnen aus der Universitätsfrauenklinik Kiel im Jahre 1999 konnte in 107 Fällen und damit in 87 % der SLN detektiert werden [(Eidtmann 1999)]. Ein tumorbefallener SLN fand sich dabei bei 45 Patientinnen und damit in 36 % (Tab. 14). Dies erfolgte im Rahmen einer im weiteren als Kieler Studie bekannte prospektiv randomisierten Studie zur Klärung der Frage, ob bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom und histologisch negativer SLN-Biopsie auf eine konventionelle Standard-Axilladisektion verzichtet werden kann. Dabei zeigte sich ebenfalls, dass eine Lernkurve für die Operateure erforderlich war. Durch Standardisierung und entsprechende Validierung konnte sich das Verfahren durchsetzen und stellt noch heute den Golden Standard zur SLN-Detektion dar.

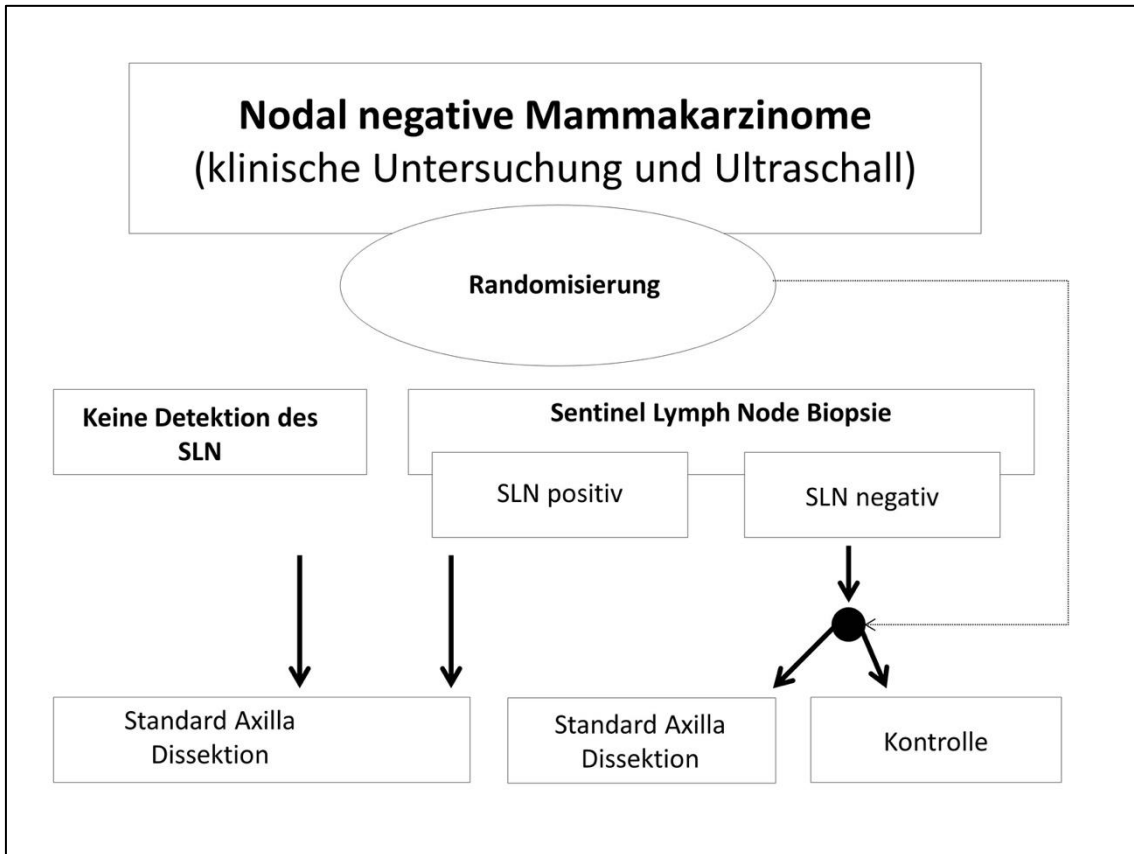


Abb. 20: Rationale für das Studiendesign der Kieler Studie zur Sentinel-Technik mittels Tc als Ersatz zur routinemäßigen axillären Lymphonodektomie beim Mammakarzinom [(Eidtmann 1999)]

Tab. 14: Ergebnisse der ersten SLN-Biopsien mittels Tc als Feasibility Studie der Universitäts-Frauenklinik Kiel [(Eidtmann 1999)]

	n	%
Gesamtzahl	124	100
Darstellung des SLN	107	87
Tumorbefall	45	36
Nur SLN	16	13
Skip-Metastasen	2	2
Richtige Vorhersage	98	
Falsch-negativ	4	

7. Zusammenfassung

Die Detektion des Sentinel-Lymphknotens beim frühen Mammakarzinom ist mittlerweile ein Standardverfahren zur Erfassung des axillären Lymphknotenstatus und reduziert damit deutlich eine fakultative Sekundärmorbidität in Form von Schmerzhaftigkeit, Bewegungseinschränkung und Lymphödembildung des Armes. Goldstandard ist dabei das szintigraphische Verfahren durch den Einsatz von Technetium, das allerdings den Einsatz nuklearmedizinischer Techniken bedeutet und assoziiert ist mit höheren Kosten und einer, wenn auch sehr geringen, Strahlenbelastung. Unter diesem Aspekt war es von Interesse, ein Fluoreszenzverfahren zu überprüfen und in dieser Situation im direkten Vergleich zum Goldstandard einzusetzen. Im Rahmen einer monozentrischen prospektiven nicht-randomisierten Phase II-Studie wurde die Fluoreszenztechnik mittels des Fluoreszenzfarbstoffes ICG bzgl. Effektivität der SLN-Detektion im intraindividuellen Vergleich zum Standardverfahren mit Technetium überprüft. Darüber hinaus wurde die Arzneimittelsicherheit bei der subkutanen bzw. auch intradermalen periareolären Injektion des Fluoreszenzfarbstoffes Indocyaningrün der Firma Pulsion überprüft. Dazu wurden in einem Zeitraum von 03.2012 bis 06.2013 insgesamt 126 Patientinnen mit frühem stanzbiologisch gesichertem klinisch und bildgebend nodal negativem Mammakarzinom erfasst und im Rahmen einer Phase-II-Studie ausgewertet. Im intraindividuellen Vergleich konnte durch Einsatz der Szintigraphie mit ^{99m}Tc Nanocoll® eine Detektionsrate von 96 % erreicht werden, durch den Einsatz von ICG-Pulsion nur 89 %. Limitierender Faktor war dabei die eingeschränkte Darstellbarkeit der Lymphbahnen mit der Fluoreszenzmethode. Im praktischen Einsatz zeigte sich, dass das Verfahren von zahlreichen Einflussvariablen abhängig war wie Raumlicheinstellung, Einstellung der Kamera, Führung der Kamera und die Erfahrung des Operateurs. Für die praktische Durchführung der Untersuchung bedeutet dies die Erstellung einer Lernkurve für ein möglichst standardisiertes Vorgehen soweit möglich. Darüber hinaus zeigte sich auch, dass ab einem BMI von >40 die Methode keine adäquate Fluoreszenzdarstellung ermöglichte.

Verschiedene Studienansätze und die fehlende Validierbarkeit erklären die divergierenden Daten in der Literatur und die damit fehlende Vergleichbarkeit. Daraus resultiert möglicherweise auch die Tatsache, dass das Fluoreszenzverfahren noch keinen klinischen Einsatz oder Stellenwert außerhalb von Studien gefunden hat.

Bei Erfassung der Arzneimittelsicherheit zeigte sich, dass bei intradermaler ebenso wie bei subkutaner Applikation bei allen Patientinnen ICG sich als eine sichere Substanz erwies.

Im Gegensatz zu der aus der Literatur im klinischen Einsatz bekannten Pigmentierung bei Einsatz von Patentblau (blaue Farbstoffdarstellung) kam es bei der Fluoreszenztechnik zu keiner anhaltenden kosmetisch störenden Hautpigmentierung. Im Rahmen weiterer Studien mit mittlerweile verfügbaren noch höher auflösenden Kamerasystemen könnte die Fragestellung weiter überprüft werden.

8. Literaturverzeichnis

1. Abe H, Mori T et al. Indocyanine Green Fluorescence Imaging System for Sentinel Lymph Node Biopsies in Early Breast Cancer Patients Surg. Today, 2011; 41: 197–202
2. Abe H, Umeda T, Mori M, et al. Indocyanine green fluorescence imaging system for sentinel lymph node biopsy in early breast cancer patients. J Clin Oncol 2010; 28 (Suppl. 15): 6492
3. Abels C, Fickweiler S, et al. Indocyanine green (ICG) and laser irradiation induce photooxidation. Arch Dermatol Res, 2000; 292: 404-11
4. Aoyama K, Kamio T, Ohchi T, Nishizawa M, Kameoka S. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer patients using fluorescence navigation with indocyanine green. World J Surg Oncol., 2011; 9:157
5. Ballardini B, Santoro L et al. The indocyanine green method is equivalent to the 99mTc-labeled radiotracer method for identifying the sentinel node in breast cancer: A concordance and validation study. Eur J Surg Oncol, 2013; 1-5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2013.10.004>
6. Bäuml W, Paasch U et al. Intravenous injection of indocyanine green to enhance laser-assisted coagulation of blood vessels in skin - an animal study. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2006; 27:2; 206-11
7. Benson JR, Querci Della Rovere G. Management of the axilla in women with breast cancer. Lancet Oncol 2007; 8: 331-48
8. Bleicher RJ, Kloth DD, Robinson D, Axelrod P. Inflammatory cutaneous adverse effects of methylene blue dye injection for lymphatic mapping/sentinel lymphadenectomy. J Surg Oncol 2009; 99: 356-360
9. Bold RJ. Standardization of sentinel lymph node biopsy in breast carcinoma. Cancer 2005; 103: 444-446
10. Cody H S 3rd, Fey J, Akhurst T, Fazzari M, Mazumdar M, Yeung H, Yeh S D, Borgen PI. Complementarity of blue dye and isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. Ann Surg Oncol, 2001; 8:1, 13-9
11. Dupont E, Cox C, Shivers S, Salud C, Nguyen K, Cantor A, et al. Learning curves and breast cancer lymphatic mapping: institutional volume index. J Surg Res. 2001; 97(1): 92-96
12. Eidtmann H. Kontroversen der axillären Lymphonodektomie (SLN). Onkologie 1999; 22(Suppl 2):18-21
13. Fachinformation ICG-Pulsion 2010
14. Fasching PA, Ekici AB, Wachter DL, Hein A, Bayer CM, Häberle L, Loehberg CR, Schneider M, Jud SM, Heusinger K, Rübner M, Rauh C, Bani MR, Lux MP, Schulz-Wendtland R, Hartmann A, Beckmann MW. Breast Cancer Risk – From Genetics to Molecular Understanding of Pathogenesis. Geburtsh Frauenheilk 2013; 73:1228–1235
15. Furukawa H, Osawa M et al. Microsurgical lymphaticovenous implantation targeting dermal lymphatic backflow using indocyanine green fluorescence lymphography in the treatment of postmastectomy lymphedema. Plast Reconstr Surg 2011; 127:5, 1804-1811
16. Giuliano A, Kirgan D, Guenther J, Morton D. Lymphatic mapping and sentinel Lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg 1994; 220: 391-401
17. Gould AL. Observation a “Sentinel-node” in cancer of the parotid. Cancer 1960; 13: 77-78
18. Grischke E-M, Röhm C, Hahn M, Helms G, Wallwiener D, Brucker S. Sentinel-Lymphknoten-Detektion beim Mammakarzinom mittels Fluoreszenztechnik – eine Alternative zum Technetiumverfahren? Geburtsh Frauenheilk 2015; 75: 935-940

19. Guo W, Zhang L, Ji J, Gao W, Liu J, Tong M. Evaluation of the benefit of using blue dye in addition to indocyanine green fluorescence for sentinel lymph node biopsy in patients with breast cancer. *World J Surg Oncol.* 2014; 12:290
20. Heidenreich P et al. Das Konzept des Wächterlymphknotens: Stand und klinische Bedeutung. *Dtsch Arztebl* 2001; 98(9): A-534 / B-434 / C-408
21. Heuveling DA, Visser GW et al. Nanocolloidal albumin-IRDye 800CW: a near-infrared fluorescent tracer with optimal retention in the sentinel lymph node. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*; 2012; 39:7, 1161-8
22. Heywang-Koebrunner S, Bock K, Heindel W, Hecht G, Regitz-Jedermann L, Hacker A, Kaeaeab-Sanyal V. Mammography Screening – as of 2013. *Geburtsh Frauenheilk* 2013; 73:1007–1016
23. Hirche C, Murawa D, Mohr Z, Kneif S, Hühnerbein M. IICG fluorescence-guided sentinel node biopsy for axillary nodal staging in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121(2):373-8
24. Hirche C, Mohr Z et al. High Rate of Solitary Sentinel Node Metastases Identification by Fluorescence-Guided Lymphatic Imaging in Breast Cancer. *J. Surg. Oncol.*, 2011; 105:2, 162-6
25. Hirche C, Murawa D et al. ICG fluorescence-guided sentinel node biopsy for axillary nodal staging in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 17:9, e2357-62
26. Hojo T, Nagao T, Kikuyama M, Akashi S, Kinoshita T. Evaluation of sentinel node biopsy by combined fluorescent and dye method and lymph flow for breast cancer. *Breast*, 2010; 210-3
27. Hubalek M, Bartsch R, Gnant M, Kapp KS, Lang A, Lax S, Lukas P, Neunteufel W, Pristauz G, Reitsamer R, Sandbichler P, Schrenk P, Singer C, Tamussino K, Tschmelitsch J, Zeimet AG, Marth C. Axillary Dissection in the Case of Positive Sentinel Lymph Nodes: Results of the Innsbruck Consensus Conference. *Geburtsh Frauenheilk* 2012; 72: 293–298
28. Hühnerbein M et al. Zum Stellenwert der laparoskopischen Sonographie für das Staging gastrointestinaler Tumoren. *Chirurg*, 2001; 72: 914-919
29. Huttemann M, Mieog J et al. Randomized, double-blind comparison of indocyanine green with or without albumin premixing for near-infrared fluorescence imaging of sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 2011; 127: 1, e163-70
30. ICH Topic E8 General Considerations for Clinical Trials. CPMP/ICH/291/95. March 1998
31. ICH Topic E9 Statistical Principles for Clinical Trials. CPMP/ICH/363/96. September 1998
32. Jaffer U, Badri H, Abdullah TI. Skin necrosis following patent blue V injection for sentinel node detection during breast cancer excision: case report. *Breast J*, 2008; 14: 508-509
33. Jonak C, Skvara H et al. Intradermal indocyanine green for in vivo fluorescence laser scanning microscopy of human skin: a pilot study. *PLoS One*, 2011; 6:8, 23972
34. Kitai T, Inomoto T, Miwa M, Shikayama T. Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer*; 2005; 12, 211-215
35. Kim T, Giuliano AE, Lyman GH. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in early-stage breast carcinoma: a metaanalysis. *Cancer*. 2006; 106(1):4-16
36. Köchli OR, Langer I, Berclaz G, Bischof T, Brund del Re R, Burkhard R, Delaloye J-F, Diener P-A, Haller U, Ries G, Schäfer P, Schär G, Steinert HC, von Orelli S, Zuber M. Sentinel Lymphknotenbiopsie beim Mammakarzinom. *Senologie*; 2005 2(1): 14-17

37. Krag DN, Anderson J, Julian TB, et al. Comparison of sentinel lymph node resection to conventional axillary dissection in clinically node negative breast cancer patients: primary outcome results of NSABP B032 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11(10): 927-33
38. Krag DN, Weaver DL, Alex JCI, Fairbank JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1993; 2: 335-340
39. Krag D, Weaver D et al. The sentinel node in breast cancer a multicentre validation study. *N Engl J Med*; 1998; 339, 941-46
40. Kühn T, Bembenek A, Büchels H, Decker T, Dunst J, Müllerleile U, Munz DL, Oster-tag H, Sautter-Bihl ML, Schirrmeyer H, Tulusan AH, Untch M, Winzer KJ, Wittekind C. Sentinel-Node-Biopsie beim Mammakarzinom: Interdisziplinäre abgestimmter Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Senologie für eine qualitätsgesicherte Anwendung in der klinischen Routine. *Geburtsh Frauenheilk* 2003; 63: 835-840
41. Kwon S, Sevick-Muraca EM. Functional lymphatic imaging in tumor-bearing mice, *J Immunol Methods*, 2010; 360:1-2, 167-72
42. Kwon S, Sevick-Muraca EM. Noninvasive quantitative imaging of lymph function in mice. *Lymphat Res Biol*, 2007; 5:4, 219-31
43. Kwon S, Agollah GD et al. Direct visualization of changes of lymphatic function and drainage pathways in lymph node metastasis of B16F10 melanoma using near-infrared fluorescence imaging. *Biomed Opt Express*, 2013; 4:6, 967-77
44. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. Dezember 2017. AWMF-Registernummer: 032-045OL. www.leitlinienprogramm.onkologie.de/fileadmin/user_upload/LL_Mammakarzinom_Langversion_4.0.pdf
45. Lux MP, Maass N, Schütz F, Schwidde I, Fasching PA, Fehm T, Janni W, Kümmel S, Kolberg HC, Lüftner D. *Breast Cancer* 2013 – Interpretation of New and Known Data. *Geburtsh Frauenheilk*, 2013; 73: 584–598
46. Lyman G, Giuliano A, Somerfield M, Benson A, Bodurka D, Burstein H et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*; 2005; 23, 7703–7720
47. Marshall MV, Draney D. et al. Single-dose intravenous toxicity study of IRDye 800CW in Sprague-Dawley rats. *Mol Imaging Biol*, 2010; 12:6, 583-94
48. Masannat Y, Shenoy H, Speirs V, Hanby A, Horgan K. Properties and characteristics of the dyes injected to assist axillary sentinel node localization in breast surgery. *Eur J Surg Oncol*, 2006; 32: 381-384
49. McMasters K, Tuttle T et al. Sentinel Lymph Node Biopsy for Breast Cancer: A Suitable Alternative to Routine Axillary Dissection in Multi-Institutional Practice When Optimal Technique Is Used. *Journal of Clinical Oncology*, 2000; 18, 2560-2566
50. Mieog J, Troyan S et al. Toward Optimization of Imaging System and Lymphatic Tracer for Near-Infrared Fluorescent Sentinel Lymph Node Mapping in Breast Cancer. *Ann Surg Oncol.*, 2011; 18:9, 2483-2491
51. Morton DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran A. Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early stage melanoma of head and neck. *J Clin Oncol*, 1993; 11: 1751-1756
52. Morton DL, Wen DR, Wong JH. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 1992; 127: 392:399
53. Motomura K, Inaji H, Komoike Y, Kasugai T, Noguchi S, Koyama H. Sentinel node biopsy guided by indocyanine green dye in breast cancer patients. *Jap J Clin Oncol*, 1999; 29: 604-7
54. Murawa D, Hirche C, Dresel S, Hühnerbein M. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer guided by indocyanine green fluorescence. *Br J Surg*, 2009; 11, 1289-94
55. Polom K, Murawa D, Nowaczyk P, Rho YS, Murawa P. Breast cancer sentinel lymph node mapping using near infrared guided indocyanine green and indocyanine green-

- human serum albumin in comparison with gamma emitting radioactive colloid tracer. *Eur J Surg Oncol.*, 2012; 38:2, 137-142
56. Purushotham AD, Macmillan RD, Wishart GC. Advances in axillary surgery for breast cancer – time for a tailored approach. *Eur J Surg Oncol*, 2005; 31 (9): 929-31
 57. Rangioni JV. In vivo near-infrared fluorescence imaging. *Curr Opin Chem Biol.* 2003; 7(5): 626-34
 58. Rasmussen, J. C., I. C. Tan, et al. Human Lymphatic Architecture and Dynamic Transport Imaged Using Near-infrared Fluorescence. *Transl Oncol*, 2010; 3:6, 362-72
 59. Reyes F, Noelck M, Valentino C, Grasso-Lebeau L, Lang J. Complications of methylene blue dye in breast surgery: case reports and review of the literature. *J Cancer.* 2010; 2:20-5
 60. Rubio I, Korourian S, Christopher C et al. Sentinel Lymph Node Biopsy for Staging Breast Cancer. *The American Journal of Surgery*, 1998; 176, 532 – 537
 61. Samorani D, Fogacci T, Panzini I, Frisoni G, Accardi FG, Ricci M, et al. The use of indocyanine green to detect sentinel nodes in breast cancer: a prospective study. *Eur J Surg Oncol.* 2015; 41(1): 64-70
 62. Sardi A, Spiegler E, Colandrea J, Frishberg D, Sing H, Regan P, et al. The benefit of using two techniques for sentinel lymph node mapping in breast cancer. *Am Surg.* 2002; 68(1): 24-28
 63. Schmidt M, Bares R, Brenner W, Buck A, Gründwald F, Kopp J, Krause BJ, Schober O, Sciuk J, Sudbrock F, Wengenmair H. DGN-Handlungsempfehlung (S1-Leitlinie) – Verfahrensanweisung für die technische Durchführung der nuklearmedizinischen Wächter-Lymphknoten-Diagnostik. 10/2014
 64. Sharma R, Wang W et al. Quantitative imaging of lymph function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007; 292, 3109 - 3118
 65. Sinn P, Aulmann S, Wirtz R, Schott S, Marmé F, Varga Z, Lebeau A, Kreipe H, Schneeweiss A. Multigene Assays for Classification, Prognosis, and Prediction in Breast Cancer: a Critical Review on the Background and Clinical Utility. *Geburtsh Frauenheilk* 2013; 73: 932–940
 66. Skvara H, Kittler H et al. In vivo fluorescence confocal microscopy: indocyanine green enhances the contrast of epidermal and dermal structures. *J Biomed Opt*, 2011; 16:9, 096010
 67. Solomon M, White B et al. Video-rate fluorescence diffuse optical tomography for in vivo sentinel lymph node imaging. *Biomet Opt Express*, 2012; 2:12, 3267-3277.
 68. Sugie T, Kassim KA, Takeuchi M, Hashimoto T, Yamagami K et al. A Novel Method for Sentinel Lymph Node Biopsy by Indocyanine Green Fluorescence Technique in Breast Cancer. 2010; *Cancers*; 2, 713-20
 69. Tagaya N, Yamazaki R, Nakagawa A, Abe A, Hamada K, Kubota K, Oyama T. Intraoperative identification of sentinel lymph nodes by near-infrared fluorescence imaging in patients with breast cancer. *Am J Surg.*, 2008; 6, 850-853
 70. Tagaya N, Yasumazaki R, Nakagawa A, Abe A, Hamada K, Kubota K, Oyama T. Intraoperative identification of sentinel lymph nodes by near-infrared fluorescence imaging in patients with breast cancer. *Am J Surg* 2011; 6 850-853
 71. Takeuchi M, Sugie T, Abdelazeem K, Kato H, Shinkura N, Takada M, Yamashiro H, Ueno T, Toi M. Lymphatic Mapping With Fluorescence Navigation Using Indocyanine Green and Axillary Surgery in Patients With Primary Breast Cancer. *Breast J* 2012;18(6): 535-41
 72. Teal CB, Slocum JP, Akin EA. Evaluation of the benefit of using blue dye in addition to radioisotope for sentinel lymph node biopsy in patients with breast cancer. *Breast J.* 2005; 11(6): 391-3

73. Troyan S, Kianzad V et al. The FLARE™ Intraoperative Near-Infrared Fluorescence Imaging System: A First-in-Human Clinical Trial in Breast Cancer Sentinel Lymph Node Mapping. *Ann Surg Oncol*, 2009; 16:10, 2943-2952
74. Verbeek FP, Troyan SL, Mieog JS, Liefers GJ, Moffitt LA, Rosenberg M, et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping in breast cancer: a multicenter experience. *Breast Cancer Res Treat*. 2014; 143(2): 333-42
75. Veronesi U, Paganelli, G et al. A Randomized Comparison of Sentinel-Node Biopsy with Routine Axillary Dissection in Breast Cancer. *N Engl J Med*; 2003; 349, 546-53
76. Weng PW, Hsu HM, Chen TW, Shieh CB, Chang TM, Chen VT. Blue angioedema of eyelip after patent blue injection for lymphatic mapping procedure. *Eur J Cancer Care* 2007; 16: 390-391
77. Wishart G, Loh S, Jones L and Benson J. A feasibility study (ICG-10) of indocyanine green (ICG) fluorescence mapping for sentinel lymph node detection in early breast cancer. *Eur J Surg Oncol*, 2012; 38:8, 651-545
78. Wittekind C. Pathohistologische Aspekte der Sentinel-Lymphknoten-Biopsie. *Onkologie* 2003; 9:650-654
79. Zhang X, Li Y, Zhou Y, Mao F, Lin Y, Guan J, et al. Diagnostic Performance of Indocyanine Green-Guided Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016; 11(6): 0155597

9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Blaufärbung der Haut.....	6
Abb. 2:	Aufsuchen des Lymphknotens im Fettgewebe.....	7
Abb. 3:	Selektive Entnahme des blau gefärbten Lymphknotens	7
Abb. 4:	Beschreibung des Fluoreszenzfarbstoffes ICG Indocyanin-Grün - Chemische Struktur mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie.....	10
Abb. 5:	Mechanismus der Fluoreszenz-Stimulation-Fluoreszenz (Atom, Molekül) – Energiefreisetzung mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie	10
Abb. 6:	Sowohl Absorptions- als auch Fluoreszenz-Maximum von ICG liegen im nahen Spektralbereich (Absorptionsmaximum bei 800 nm, das Emissionsmaximum für Fluoreszenzmessungen bei 830 nm) mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie.....	11
Abb. 7:	Schematische Darstellung einer Kombination von Blau- und Technetium-Methode zur SLN Detektion (mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems) als Bestandteil des Prüfplans.....	13
Abb. 8:	Wirkprinzip der Fluoreszenzmethode – dargestellt ist die Infrarotkamera Photo Dymanic Eye® (Hamamatsu) wie sie in der Studie eingesetzt wurde sowie die schematische Detektion der Fluoreszenz bis zu einem Tiefendurchmesser von 1,5 cm mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie.....	15
Abb. 9:	Vorgehensweise zum Aufsuchen des SLN , Abbruch der darstellbaren Fluoreszenz im Hautniveau mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie.....	15
Abb. 10:	Schematische Darstellung des Abbruchs der Fluoreszenz bzw. der mittels Fluoreszenz dargestellter Lymphbahn sowie des nachgeordneten Lymphknotens als geeignete Hautinzisionsstelle mit freundlicher Genehmigung der Firma Pulsion Medical Systems, als Bestandteil des Prüfplanes der Studie.....	16
Abb. 11:	Einschlusskriterien für eine Studienteilnahme (Auszug aus Prüfplan)	21
Abb. 12:	Ausschlusskriterien für eine Studienteilnahme (Auszug aus Prüfplan)	23
Abb. 13:	Protokoll zur SLN Detektion mittels Technetium (Auszug aus Prüfplan)	29
Abb. 14:	Auf der Haut markierte Lymphbahnen gemäß Verlauf der Fluoreszenz und Hautinzisionsstelle bei Raumlicht in Abhängigkeit des zuvor ermittelten Fluoreszenzverlaufs.....	32
Abb. 15:	Zuführende Lymphbahn mit Abbruch der Fluoreszenz als Hinweis für ein Tiefertreten der Fluoreszenz zum Sentinel Lymphknoten - erfasst mit der PDE Kamera	32
Abb. 16:	Darstellung des fluoreszierenden Primärtumors mit der zum Sentinel-Lymphknoten führenden Lymphbahn und einem stark fluoreszierendem Sentinel-Lymphknoten- erfasst mit der PDE Kamera	33
Abb. 17:	Exstirpiertes Lymph-Fettgewebe mit fluoreszierenden Lymphknoten (2 SNL)	33
Abb. 18:	Protokoll zur operativen Entfernung aller mittels ICG und Tc detektierten SLN (Auszug aus Prüfplan).....	35
Abb. 19:	Anzahl der pro Patientin detektierten Lymphknoten bezogen auf die einzelnen Verfahren - Technetium (Tc), Fluoreszenz (ICG) und beide Verfahren in Kombination (Tc und ICG) eingeteilt nach 1,2 und 3 detektierten SLN.....	41
Abb. 20:	Rationale für das Studiendesign der Kieler Studie zur Sentinel-Technik mittels Tc als Ersatz zur routinemäßigen axillären Lymphonodektomie beim Mammakarzinom [(Eidmann 1999)]	57

10. Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Detektionsraten bei Mammakarzinom mittels Radionuklid-Methode.....	4
Tab. 2:	Morphologische Klassifikation gemäß TNM-Klassifikation [(Köchli et al. 2005)]	17
Tab. 3:	Histologische Differenzierung gemäß TNM-Klassifikation [(Köchli et al. 2005)]	17
Tab. 4:	Übersicht über die Tumorstadien (nach TNM Klassifikation) von im Rahmen der Studie (n=126 Pat.) erfassten Patientinnen im Vergleich zu im gleichen Zeitraum behandelten Patientinnen am Brustzentrum Tübingen (Daten aus Qualitäts-Bericht von OnkoZert 2013, Auditbericht intern)	25
Tab. 5:	Patientinnen nach BMI-Index aufgelistet – 3 Patientinnen wiesen einen BMI >40 auf	
Tab. 6:	Sentinel-Lymphknoten-Detektion mit Technetium und Indocyaningrün bezogen auf die Anzahl untersuchter Patientinnen	40
Tab. 7:	Anzahl der pro Patientin detektierten und exstirpierten Lymphknoten (ein, zwei und drei SLN) in Abhängigkeit der jeweiligen Detektions-Methode.....	40
Tab. 8:	Anzahl der insgesamt detektierten und exstirpierten Lymphknoten (SLN) in Abhängigkeit der Methode	42
Tab. 9:	Charakterisierung der entnommenen SLN in Abhängigkeit von der Reihenfolge der Detektion (erster SLN – zweiter SLN) bezogen auf die jeweilige Detektions-Methode	43
Tab. 10:	Subgruppenanalyse - Anzahl detektierter Lymphknoten bei intradermaler Applikation (aufgelistet in Abhängigkeit des BMI) für die jeweiligen Detektionsverfahren	44
Tab. 11:	Detektionsrate von SLN mit histopathologischem Tumorbefall in Abhängigkeit von der Detektionsmethode bezogen auf die Anzahl der untersuchten Patientinnen (patientinnenbezogen)	45
Tab. 12:	Erfassung der Anzahl von Patientinnen mit tumorbefallenen exstirpierten Lymphknoten (SLN) in Abhängigkeit von dem Detektionsverfahren (Tc, ICG)	45
Tab. 13:	Aufgetretenen Ereignisse im Rahmen der Studie bei intradermaler Injektion von ICG (Erfassung der Arzneimittelsicherheit)	47
Tab. 14:	Ergebnisse der ersten SLN-Biopsien mittels Tc als Feasibility Studie der Universitäts-Frauenklinik Kiel [(Eidtmann 1999)]	57

11. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bezeichnung
BMI	Body-Maß-Index
d.h.	das heißt
i.v.	intravenös
ICG	Indocyaningrün
LK	Lymphknoten
n	Anzahl
n.a.	not available (nicht verfügbar)
NIR-Strahlung	Near infrared Fluoreszenz
PDE	Photo Dynamic Eye
SLN	Sentinel Node (Sentinel-Lymphknoten)
SLNB	Sentinel Node Biopsie (Sentinel-Lymphknoten Biopsie)
Tc	Technetium
TNM-Klassifikation	Tumor Nodus Metastasen-Klassifikation
u.a.	unter anderem
V.a.	Verdacht auf

12. Anlagen

Arbeitsanleitung zur SLN–Detektion

Praktisches Vorgehen beim Einsatz von ICG-Pulsion zur SLN-Detektion mittels Fluoreszenz

(erstellt: 03.2012)

1. Geräteeinstellung der Infrarotkamera

Durch Betätigung des Einschaltknopfes „Aus / An“ ist das Gerät voll funktionstüchtig. Die Infrarotlichtkamera PDE - Photo Dynamic Eye (Handgerät) ist damit bereits eingestellt. Generell sollte das Licht konstant auf 2-3 Dioden eingestellt werden.

Zu empfehlen ist eine maximale Helligkeit. Kontrast wird ebenfalls auf 2-3 Dioden eingestellt.

Die weitere Regulierung erfolgt über das Raumlicht.

2. Betätigung des Aufnahmegerätes zur Unterstützung der Datenauswertung und Wiedergabe

Das Aufnahmegerät ist in der Regel an den Monitor angeschlossen. Beim Drücken des „Mode“-Knopfes kann die Aufnahmequalität eingestellt werden (gut – besser – best). In der Regel ist das Gerät auf die mittlere Stufe „besser“ eingestellt. Dann sollten zwei LEDs leuchten (blau).

Zum Aufnehmen wird der „Record“-Knopf gedrückt. Die LEDs sollten anhaltend rot leuchten.

Um die Aufnahme zu stoppen wird der Knopf nochmals gedrückt. Die LEDs bleiben rot, bis alle Daten auf dem Stick gespeichert sind. Nach ein paar Sekunden sollten die LEDs wieder anhaltend blau leuchten.

3. Zubereitung der ICG-Lösung und Injektion

Zubereitung des fluoreszierenden Farbstoffes: pro Patientin wird eine Durchstechflasche mit 25 mg ICG verwendet. Der Farbstoff wird mit 5 ml Aqua dest zur Injektion aufgelöst. Von dieser Lösung werden 1 ml intradermal, periareolär in den Quadranten injiziert, in dem sich der Tumor befindet und das Gewebe über der Injektionsstelle über 1 Min. massiert.

4. Intraoperatives Vorgehen

In der Regel erfolgt die Injektion 15-20 min. vor der intraoperative SLN-Detektion, d.h. standardisiert nach Beendigung der Narkoseeinleitung vor Abwaschen des Wundgebietes. Hierzu lokale Desinfektion mit Hautdesinfektionsmittel, nicht gefärbt.

Es erfolgt die Vorbereitung der Patientin durch Desinfektion des Operations-Gebietes mit nicht gefärbtem Braunoderm.

5. Operativer Zugangsweg zur Axilla

Bei isoliertem Zugang zur Axilla (nicht über Mammaumschneidungsfigur) sollte mit der SLN-Biopsie begonnen werden. Bei Zugang über die mammäre Schnittführung (brusterhaltend oder ablativ) sollte vor Beginn mit der Umschneidung (Hautinzision) mit der Detektion der Lymphbahnen zur SLN-Detektion begonnen werden.

6. Detektion des SLN

Zunächst erfolgt die Detektion des SNL mit der Gammasonde nach entsprechender Lymphszintigraphie und Markierung des Hautareales mit Markierungsstift an der Stelle der maximalen Countzahl. Die Infrarotlichtkamera PDE (Detektionskopf des Pulsionsgerätes) wird ebenfalls mit einem sterilen Überzug versehen.

Anschalten des komplett aktivierten Gerätes, unmittelbar vor Detektionsbeginn.

Einstellung des Raumlichtes, nach Lichtverhältnissen. Bei normalem Tageslicht sollten Raumlicht und entsprechende OP-Lampen ausgeschaltet werden.

Mit dem Detektionskopf, der ca. 20-25 cm von der eigentlichen Haut entfernt gehalten wird, wird zunächst das Reservoir (Depot nach Injektion von ICG-Pulsion) erfasst.

Der Detektionskopf führt ein gewisses Feintuning selbst durch.

Wichtig ist dabei, dass neben der Fluoreszenz die eigentlichen Hautkonturen, unter anderem Areola, zu erkennen sind. Die Infrarotlichtkamera sollte möglichst immer im 90 Grad Winkel zur Haut gehalten werden. Die Wahl des Raumlichtes und das Führen des Detektionskopfes sind entsprechend auszurichten. Ziel ist es, die Lymphbahnen ausgehend von dem Reservoir in Richtung Axilla zu detektieren und zu verfolgen. Diese werden mit Markierungsstift angezeichnet. An der Stelle, an der die Lymphbahn endet, sollte sich der bereits szintigrafisch mit Gammasonde detektierte Sentinel befinden. An dieser Stelle sollte die Hautinzision erfolgen bzw. über eine bereits erfolgte Inzision die weitere Präparation. Erst an der eröffneten Haut kann eine weitere fluoreszenzgesteuerte SLN-Detektion erfolgen.

Exstirpation des szintigrafisch markierten Sentinels und Überprüfung, in wie weit dort eine Fluoreszenz vorliegt. Dies erfolgt wiederum im entsprechend abgedunkelten Raum mit dem Fluoreszenzdetektionsgerät.

In der Folge sollte zur potentiellen Erfassung weiterer Fluoreszenz und / oder Signalgebung beim szintigrafischen Verfahren mit der Gammasonde die Exzisionsstelle nochmals überprüft werden.

Einwilligungserklärung zur klinischen Studie

Name und Anschrift der Einrichtung, in der die klinische Prüfung durchgeführt wird Name und Telefon-Nummer des Prüfarztes

.....
.....
.....

Untersuchung der Wirksamkeit der Fluoreszenzmethode für die Markierung der Wächterlymphknoten bei Brustkrebs – eine monozentrische, prospektive, einarmige, offene klinische Prüfung

.....
Name des Patienten in Druckbuchstaben

geb. am Patientenidentifikations-Nr.

Ich bin in einem persönlichen Gespräch durch den Prüfarzt

.....
Name der Ärztin / des Arztes

ausführlich und verständlich über das Prüfmedikament und die Vergleichstherapie sowie über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der klinischen Prüfung aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text der Patienteninformation sowie die hier nachfolgend abgedruckte Datenschutzerklärung gelesen und verstanden. Ich hatte die Gelegenheit, mit dem Prüfarzt über die Durchführung der klinischen Prüfung zu sprechen. Alle meine Fragen wurden zufrieden stellend beantwortet.

Möglichkeit zur Dokumentation zusätzlicher Fragen seitens des Patienten oder sonstiger Aspekte des Aufklärungsgesprächs:

.....
.....
.....
.....

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden.

Mir ist bekannt, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme an der Prüfung zurückziehen kann (mündlich oder schriftlich), ohne dass mir daraus Nachteile für meine medizinische Behandlung entstehen.

Datenschutz:

Mir ist bekannt, dass bei dieser klinischen Prüfung personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der klinischen Prüfung folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, das heißt ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an der klinischen Prüfung teilnehmen.

1. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Prüfung personenbezogene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, über mich erhoben und in Papierform sowie auf elektronischen Datenträgern in meinem Prüfzentrum (Universitäts-Frauenklinik Tübingen) aufgezeichnet werden. Soweit erforderlich, dürfen die erhobenen Daten pseudonymisiert (verschlüsselt) weitergegeben werden:
 - a) an den Sponsor oder eine von diesem beauftragte Stelle zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung,
 - b) im Falle eines Antrags auf Zulassung: an den Antragsteller und die für die Zulassung zuständige Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte),
 - c) im Falle unerwünschter Ereignisse: an den Sponsor, an die jeweils zuständige Ethik-Kommission und die zuständige Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte), sowie von dieser an die Europäische Datenbank.
2. Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Beauftragte des Sponsors sowie die zuständigen Überwachungsbehörden in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten, insbesondere meine Gesundheitsdaten, Einsicht nehmen, soweit dies für die Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.
3. Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung meiner personenbezogenen Daten, insbesondere der Angaben über meine Gesundheit, ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im Fall eines solchen Widerrufs meiner Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um
 - a) Wirkungen des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,
 - b) sicherzustellen, dass meine schutzwürdigen Interessen nicht beeinträchtigt werden,

c) der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen zu genügen.

4. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Prüfung mindestens zehn Jahre aufbewahrt werden, wie es die Vorschriften über die klinische Prüfung von Arzneimitteln bestimmen. Meine Krankenakten werden gemäß Bürgerlichem Gesetzbuch max. 30 Jahre archiviert. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht, soweit nicht gesetzliche, satzungsmäßige oder vertragliche Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.

5. Ich bin über folgende gesetzliche Regelung informiert: Falls ich meine Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, widerrufe, müssen alle Stellen, die meine personenbezogenen Daten, insbesondere Gesundheitsdaten, gespeichert haben, unverzüglich prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten für die in Nr. 3 a) bis c) genannten Zwecke noch erforderlich sind.
Nicht mehr benötigte Daten sind unverzüglich zu löschen.

6. Ich bin damit einverstanden, dass mein Hausarzt

.....
Name

über meine Teilnahme an der klinischen Prüfung informiert wird (falls nicht gewünscht, bitte streichen).

7. Ich bin damit einverstanden, dass (falls notwendig) bei meinen behandelnden Ärzten Untersuchungsbefunde angefordert werden.

8. Ich bin damit einverstanden, dass mein/-e
über meine Teilnahme an der klinischen Studie unterrichtet wird (falls nicht gewünscht, bitte streichen).

Sponsor: Pulsion MEDICAL Systems SE
Prüfplancode: PULSION-001

**Ich erkläre mich bereit,
an der oben genannten klinischen Prüfung
freiwillig teilzunehmen.**

Ein Exemplar der Patienten-Information und -Einwilligung sowie die Versicherungsbedingungen habe ich erhalten. Ein Exemplar verbleibt im Prüfzentrum.

.....
Name des Patienten in Druckbuchstaben



.....
Datum

.....
Unterschrift des Patienten

Ich habe das Aufklärungsgespräch geführt und die Einwilligung des Patienten eingeholt.

.....
Name des Prüfarztes / der Prüferärztin in Druckbuchstaben

.....
Datum

.....
Unterschrift des aufklärenden Prüfarztes / der Prüferärztin

Patienten-Information zur klinischen Prüfung

Name und Anschrift der Einrichtung, in der
die klinische Prüfung durchgeführt wird

Name und Telefon-Nummer des
Prüfarztes

.....
.....
.....

Untersuchung der Wirksamkeit der Fluoreszenzmethode für die Markierung der Wächterlymphknoten bei Brustkrebs – eine monozentrische, prospektive, einarmige, offene klinische Prüfung

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

wir möchten Sie fragen, ob Sie bereit sind, an der nachfolgend beschriebenen klinischen Prüfung teilzunehmen.

Klinische Prüfungen sind notwendig, um Erkenntnisse über die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Arzneimitteln zu gewinnen oder zu erweitern. Deshalb schreibt der Gesetzgeber im Arzneimittelgesetz vor, dass neue Arzneimittel klinisch geprüft werden müssen. Die klinische Prüfung, die wir Ihnen hier vorstellen, wurde – wie es das Gesetz verlangt – von der zuständigen Ethikkommission zustimmend bewertet und von der zuständigen Behörde genehmigt.

Diese klinische Prüfung wird in einem Prüfzentrum, der Universitäts-Frauenklinik Tübingen durchgeführt; es sollen insgesamt ungefähr 125 Patienten beiderlei Geschlechts ab einem Alter von 18 Jahren inklusive teilnehmen. Die Studie wird veranlasst, organisiert und finanziert durch die Firma PULSION Medical Systems SE in München, dem Sponsor dieser Studie. Die gesamte klinische Studie wird ca. 11 Monate dauern (vom 4. Quartal 2011 bis 2. Quartal 2012). Wenn Sie an der Studie teilnehmen, wird die Studie für Sie 5 – 11 Tage dauern, abhängig von dem Zeitpunkt der Voruntersuchung. Für Sie beginnt die Studie mit Ihrer Einwilligungserklärung.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung ist freiwillig. Sie werden in diese Prüfung also nur dann einbezogen, wenn Sie dazu schriftlich Ihre Einwilligung erklären. Sofern Sie nicht an der klinischen Prüfung teilnehmen oder später aus ihr ausscheiden möchten, erwachsen Ihnen daraus keine Nachteile.

Sie wurden bereits auf die geplante Studie angesprochen. Der nachfolgende Text soll Ihnen die Ziele und den Ablauf erläutern. Anschließend wird ein Prüfarzt das Aufklärungsgespräch mit Ihnen führen. Bitte zögern Sie nicht, alle Punkte

anzusprechen, die Ihnen unklar sind. Sie werden danach ausreichend Bedenkzeit erhalten, um über Ihre Teilnahme zu entscheiden.

Warum wird diese klinische Studie durchgeführt?

Diese klinische Prüfung und die mit ihr verbundenen Datenerhebungen werden durchgeführt, um den klinischen Nutzen und die erwarteten Vorteile einer neuen Methode für die Markierung der Wächterlymphknoten bei Ihrer Erkrankung, dem Brustkrebs, zu überprüfen. Der Wächterlymphknoten ist der Lymphknoten, der in der Lymphabflussbahn am nächsten zum Brustknoten liegt. Er wird bei einer Ausbreitung des Krebses in die Achselhöhle zuerst befallen. Werden in dem Wächterlymphknoten Krebszellen gefunden, hat der Krebs also bereits in die Achselhöhle gestreut und die Lymphknoten der Achselhöhle werden entnommen.

Bislang verwendet man bei Ihrer Erkrankung 2 Arzneimittel für die Markierung und Auffindung der Wächterlymphknoten an der betroffenen kranken Brust: ein radioaktives Arzneimittel (bestehend aus einem Eiweißstoff, einem so genannten Nano-Kolloid, welches mit radioaktivem ^{99m}Technetium markiert wird). Diese Methode ist für den Patienten und für die Klinik mit einem hohen Aufwand verbunden, da für die Injektion des radioaktiven Arzneimittels ein zusätzlicher Besuch in der Klinik notwendig ist. Außerdem muss das radioaktive Arzneimittel direkt in der Klinik hergestellt werden, was vielen Kliniken, insbesondere kleineren Krankenhäusern nicht möglich ist. Auch die Entsorgung des radioaktiven Rückstandes muss sicher gestellt sein, so dass diese Methode nur an größeren Kliniken möglich ist. Weiterhin kommt es bedingt durch die Radioaktivität des Technetiums zu einer, wenn auch geringen, Strahlenbelastung des Patienten und des Personals.

Hauptziel dieser klinischen Prüfung ist es zu untersuchen, ob die Darstellung und Auffindbarkeit der Wächterlymphknoten mittels des nicht-radioaktiven Arzneimittels ICG-Pulsion[®] ebenso gut ist, wie mit der herkömmlichen Methode. Dazu wird die Markierung und das Auffinden der Wächterlymphknoten mittels ICG-Pulsion[®] mit der Markierung durch das radioaktive Arzneimittel Technetium verglichen. Es soll untersucht werden, ob mit ICG-Pulsion[®] alle Lymphknoten gefunden werden, die auch mit der herkömmlichen Methode gefunden werden und ob die mit ICG-Pulsion[®] markierten Lymphknoten Wächterlymphknoten sind. Weiterhin wird die Sicherheit von ICG-Pulsion[®] untersucht.

Ziel ist es, für ICG-Pulsion[®] als Arzneimittel für die Markierung und das Auffinden der Wächterlymphknoten bei Brustkrebs eine Zulassung zu erhalten. Mit dieser neuen Methode würden die Strahlenbelastung durch das radioaktive Arzneimittel, die Abhängigkeit von einer nuklearmedizinischen Einrichtung sowie der Aufwand für die Herstellung und Vernichtung des radioaktiven Arzneimittels entfallen. In letzter Zeit gab es Engpässe in der Lieferung solcher radioaktiven Stoffe, so dass die medizinische Behandlung oder Diagnostik weiterhin unabhängig von der Verfügbarkeit dieser radioaktiven Stoffe durchgeführt werden kann.

Welche Prüfpräparate werden angewendet und wie?

Im Falle Ihrer Teilnahme erhalten Sie einmalig eine Injektion ICG-Pulsion[®] und das radioaktive Arzneimittel Technetium (gebunden an einen Eiweißstoff) in die Haut.

ICG-Pulsion[®] ist ein dunkelgrünes Pulver und enthält als Wirkstoff das Indocyaningrün (ICG). Das Pulver wird vor der Verabreichung in Wasser gelöst. ICG-Pulsion[®] ist zur Injektion in eine Vene zugelassen (intravenöse Anwendung). ICG-Pulsion[®] hat so genannte fluoreszierende Eigenschaften. Unter Fluoreszenz versteht man dabei die kurzzeitige, spontane Aussendung von Licht durch eine Substanz, nachdem diese mit Licht angeregt wurde. ICG-Pulsion[®] sendet nach Anregung Licht im ultra-violetten Bereich aus.

ICG-Pulsion[®] ist als Diagnostikum für die Herz-, Kreislaufdiagnostik (Messung des Herzzeitvolumens und Schlagvolumens, Messung des Blutvolumens, Messung der Gehirndurchblutung), die Messung der Leberfunktion und für die Messung der Aderhautdurchblutung zugelassen und wird hier in der Routine angewendet. Es wird als Lösung in eine Vene gespritzt (intravenös verabreicht).

In dieser klinischen Prüfung wird ICG zum Nachweis der Wächterlymphknoten direkt in die Haut injiziert. Diese Art der Anwendung von ICG ist bisher von der Behörde nicht zugelassen.

Bisherige Erfahrungen mit ICG in dieser Indikation und Anwendung: Die Injektion von ICG zur Erkennung der Wächterlymphknoten bei Brustkrebspatienten wurde in mehreren klinischen Studien an mindestens 1273 Patienten untersucht. In diesen Studien wurde ICG alleine oder in Kombination mit Technetium und/ oder einer blauen Farblösung in die Haut oder in das Gewebe direkt unter der Haut gespritzt, um den Lymphabfluss zu markieren. In diesen Studien zeigte sich, dass ICG die Lymphknoten markiert und die Wächterlymphknoten durchschnittlich genauso gut erkennt wie Technetium. Hinsichtlich der Krebsausbreitung in die Achselhöhle zeigten 3 Studien an 120 Patienten, dass ICG genauso gut ist wie die herkömmliche Methode, um den Befall der Achselhöhle an Hand des Wächterlymphknotens zu erkennen. Studien, die über die Sicherheit von ICG in dieser Anwendung berichten, schildern keine Nebenwirkungen oder Komplikationen auf ICG nach Injektion unter die Haut. Die Studien waren von der Ethikkommission zustimmend bewertet und von den Behörden genehmigt.

In unserer Studie werden Ihnen während der Operation 10mg ICG-Pulsion[®] in das Brustgewebe direkt unter die Haut injiziert.

In der Routine wird Technetium für die Markierung der Wächterlymphknoten verwendet. Das Technetium ist für die Markierung von Lymphbahnen zugelassen und wird in dieser klinischen Prüfung, wie in der Routine, üblich angewendet wird. Über das Routineverfahren wird Sie Ihr/Ihre Prüfärzt/Prüfärztin gesondert aufklären.

Wie werden Sie in diese klinische Studie aufgenommen?

Sie wurden gefragt, ob Sie an dieser Studie teilnehmen möchten, weil Sie über 18 Jahre und jünger als 80 Jahre sind, an Brustkrebs leiden und bei Ihnen die Markierung der Wächterlymphknoten erfolgen soll.

Sie werden in die Studie aufgenommen, wenn Sie an der Studie interessiert und gewillt sind, die Studienbedingungen einzuhalten. Sollten Sie sich nach ausreichender Bedenkzeit zur Teilnahme an dieser Studie entscheiden, müssen Sie schriftlich und eigenhändig datiert Ihre Einwilligung zur Teilnahme an der Studie geben. Die Studie beginnt für Sie nur, wenn Ihre schriftliche Einwilligung vorliegt.

In einer Voruntersuchung (Screening) werden Sie dann durch den/die Prüfarzt/ärztin untersucht, um zu klären, ob alle Auswahlkriterien erfüllt sind. Die Voruntersuchung (Screening, Visite 1) findet maximal 9 Tage vor der Operation in Ihrem Prüfzentrum statt und dauert ca. 4 Stunden. Sie findet während eines Routinebesuchs statt und es werden nur Daten erhoben, die ohnehin für Ihre Operation benötigt werden. Das heißt, durch diese Voruntersuchung haben Sie keinen zusätzlichen Zeitaufwand und keine zusätzlichen Untersuchungen. Folgende Daten werden von Ihnen erhoben: Geburtsdatum, Alter, Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht, Ihre bisherige Krankengeschichte und Ihre bisherige Medikamenteneinnahmen. Sie werden sorgfältig körperlich untersucht, Puls, Blutdruck werden gemessen, Ihnen wird 2,7 ml Blut für ein Sicherheitslabor (Bestimmung der roten und weißen Blutkörperchen, des Blutfarbstoffs, der Blutplättchen) entnommen und ein Elektrokardiogramm (EKG) wird aufgezeichnet. Dies ist eine schmerzlose und harmlose Routineuntersuchung zur Erfassung der Herzaktivität, bei der Ihnen Elektroden an Hand- und Fußknöcheln und auf die Brust geklebt werden.

Patientinnen im gebärfähigen Alter dürfen nur teilnehmen, wenn sie nicht schwanger sind, wenn bei der Visite 2 ein negativer Schwangerschaftstest vorliegt und wenn für die Dauer der gesamten Studie eine zuverlässige, medizinisch anerkannte Verhütungsmethode angewandt wird (sehen Sie „Welche Bedingungen müssen Sie bei einer Studienteilnahme einhalten?“). Bei männlichen Teilnehmern ist eine Verhütung aus medizinischen Gründen nicht erforderlich. Wenn Sie auf Grund dieser Untersuchungen alle Kriterien erfüllen, werden Sie in die Studie aufgenommen.

Wie ist der Ablauf der klinischen Studie?

Die Teilnahme an dieser klinischen Prüfung ist mit vier Visiten in der Klinik verbunden. Für den Erfolg der Studie ist es ganz entscheidend, dass Sie alle Ihre Besuchstermine gewissenhaft wahrnehmen.

Visite 1 (Screening): am ersten Besuchstermin wird wie oben erwähnt, eine umfassende Voruntersuchung durchgeführt. Sollte die Voruntersuchung ergeben, dass Sie an der Studie teilnehmen können, findet spätestens 9 Tage nach der Voruntersuchung die Visite 2 statt.

Visite 2 (Verabreichung des radioaktiven Technetiums): Bei Patientinnen im gebärfähigen Alter wird ein Schwangerschaftstest (als Urintest) durchgeführt und - sofern weiterhin alle Einschlusskriterien zutreffen bzw. alle Ausschlusskriterien nicht zutreffen - werden Sie im Prüfzentrum stationär aufgenommen und es wird Ihnen das radioaktive Arzneimittel in der Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Tübingen verabreicht.

Visite 3 (Operation): Visite 3 findet einen Tag nach der Visite 2 statt. Sie werden für die Narkose und Operation vorbereitet. Operationsbeginn ist innerhalb von 24 Stunden nach Verabreichung des Technetiums. Zuerst wird das ICG-Pulsion[®] injiziert. Dann wird die Brust für 1 Minute sanft massiert. Das ICG fließt über das Lymphsystem ab und wird in den Lymphknoten aufgenommen. 5 Minuten nach der Injektion des ICG-Pulsion[®] werden die radioaktiv markierten Lymphknoten mit einer speziellen Sonde aufgesucht und es wird das stärkste radioaktive Signal festgestellt. Jene Stelle, die der Brust am nächsten liegt, zeigt den Wächterlymphknoten an und wird gekennzeichnet. Anschließend wird ICG-Pulsion[®] mit einem speziellen Gerät zum Leuchten (Fluoreszieren) angeregt. Das ausgesendete Licht markiert die Lymphbahnen und zeigt dem Operateur den Verlauf des Lymphabflusses. Die Stelle, an der das Leuchtsignal verschwindet, zeigt die Lage des Lymphknotens. Der Lymphknoten liegt in den allermeisten Fällen 2 Zentimeter oder mehr von dieser Stelle entfernt. Der Operateur öffnet die Haut, verfolgt den Verlauf des Leuchtens und öffnet entlang den leuchtenden Markierungen die tieferen Hautschichten solange bis das Leuchten am stärksten und punktförmig ist: hier befindet sich der Lymphknoten. Der mit ICG-Pulsion[®] markierte, leuchtende (fluoreszierende) Lymphknoten wird anschließend entnommen. Danach werden die radioaktiven markierten Lymphknoten entnommen, wie in der Routine üblich.

Visite 4 (Abschlussuntersuchung): Visite 4 findet 1 Tag nach der Operation in Ihrem Prüfzentrum statt. Die Wunde und die Injektionsstellen in der Brust werden untersucht, Ihnen wird 2,7 ml Blut für ein Sicherheitslabor (Bestimmung der roten und weißen Blutkörperchen, des Blutfarbstoffs, der Blutplättchen) entnommen und Sie werden sorgfältig körperlich untersucht. Dies ist Ihre letzte Visite in der klinischen Studie.

Wann ist die klinische Studie für Sie beendet?

Diese klinische Studie endet für Sie nach dem letzten Besuchstermin, der Visite 4.

Ihre Studienteilnahme kann jedoch vorzeitig enden,

- wenn Sie die Einwilligung zur Teilnahme widerrufen (siehe Kapitel: Welche Rechte und welche Pflichten haben Sie bei einer Prüfungsteilnahme?),
- wenn der/die Prüfarzt/ärztin Ihre weitere Studienteilnahme aus medizinischen Gründen nicht für möglich hält oder
- wenn Sie unzureichend den Anweisungen des/r Prüfarztes/ärztin folgen
- wenn die gesamte klinische Prüfung abgebrochen wird.

Der Sponsor dieser klinischen Studie und der für die ganze Studie verantwortliche Arzt und die zuständigen Behörden können eine vorzeitige Beendigung der ganzen Studie veranlassen. Gründe hierfür können sein: Erkennen eines Sicherheitsrisikos für die

Studienteilnehmer bei einer erneuten Nutzen-Risiko-Abwägung, Erkennen von Problemen im Studiendesign, unzureichende Anzahl von Studienteilnehmern und Nichtbeachtung des derzeitigen wissenschaftlichen Standards bei der Studiendurchführung durch Studienpersonal.

Sofern Sie sich dazu entschließen, vorzeitig aus der klinischen Prüfung auszuschneiden, oder Ihre Teilnahme aus einem anderen der genannten Gründe vorzeitig beendet wird, ist es für Ihre eigene Sicherheit wichtig, dass Sie sich einer empfohlenen abschließenden Kontrolluntersuchung unterziehen. Der Prüfarzt wird mit Ihnen besprechen, wie und wo Ihre weitere Behandlung stattfindet.

Welchen Nutzen hat eine Studienteilnahme für Sie?

Da die Effektivität des ICG-Pulsion[®] für die Erkennung der Wächterlymphknoten noch nicht erwiesen ist, werden Sie auf jeden Fall mit der herkömmlichen Methode behandelt. Es gibt keinen Hinweis, dass sich das radioaktive Arzneimittel und ICG-Pulsion[®] gegenseitig beeinflussen, so dass die Anfärbarkeit und die Erkennungsrate der Lymphknoten mittels der herkömmlichen Methode durch die zusätzliche Gabe von ICG-Pulsion[®] nicht beeinflusst werden und Ihnen keine Nachteile entstehen. Möglicherweise werden durch die zusätzliche Markierung mittels ICG-Pulsion[®] mehr Wächterlymphknoten gefunden und somit eine bessere Erkennungsrate der Wächterlymphknoten erzielt. Das Auffinden von Wächterlymphknoten und letztendlich die Beurteilung Ihrer Erkrankung kann so möglicherweise verbessert werden.

Welchen wissenschaftlichen Nutzen hat diese klinische Studie?

Die geplante Studie soll entscheidend zur Klärung der Frage beitragen, ob mit ICG-Pulsion[®] die Wächterlymphknoten genauso gut markiert und erkannt werden können wie mit der herkömmlichen Methode.

Es ist geplant, mit Hilfe der Ergebnisse dieser Studie die Zulassung für ICG-Pulsion[®] für die Darstellung der Wächterlymphknoten bei Brustkrebs zu erlangen. Dadurch würde ein neues Arzneimittel mit den oben genannten Vorzügen für die Behandlung der betroffenen Patienten zur Verfügung stehen.

Welche Risiken sind mit der Studienteilnahme verbunden?

Bitte teilen Sie den Mitarbeitern des Prüfzentrums *alle* Beschwerden, Erkrankungen oder Verletzungen, die im Verlauf der klinischen Prüfung auftreten umgehend mit, ggf. telefonisch.

Risiken durch die Anwendung des Prüfpräparates ICG-Pulsion[®]:

Folgende unerwünschten Wirkungen sind bei intravenöser Anwendung von ICG-Pulsion[®] bekannt, bisher jedoch nicht bei der Injektion in die Haut:

Allergische Reaktionen oder Nesselsucht wurden bei Patienten mit und ohne allergische Vorgeschichte auf Jodide beobachtet.

In sehr seltenen Fällen (in weniger als einem von 10.000 behandelten Patienten) wurde eine krampfartige Verengung der Herzkranzgefäße beschrieben.

In sehr seltenen Fällen kann es weiterhin nach der Verabreichung von indocyaningrünhaltigen Zubereitungen zu Übelkeit und allergischen Reaktionen oder einer der allergischen Reaktion ähnelnden Reaktion kommen. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz im Endstadium scheinen allergische Reaktionen häufiger zu sein. Folgende Symptome können dabei auftreten: Unruhe, Wärmegefühl, Übelkeit, Juckreiz, Nesselsucht, Gesichtssödem, Herzrasen, Hautrötung, Blutdruckabfall, Atemnot, Verkrampfung der Atemwege und des Rachenraums, Herz- Kreislaufstillstand, Tod. In Zusammenhang mit der allergischen Reaktion kann eine Erhöhung bestimmter Blutzellen, den sogenannten Eosinophilien auftreten. ICG-Pulsion® sollte mit Vorsicht bei Patienten angewendet werden, die unter Betablocker-Therapie stehen. Die Symptome eines allergischen Schocks können sich unter Betablocker-Therapie verstärken.

Die Ausscheidung von Indocyaningrün kann durch Arzneimittel, die die Leberfunktion beeinflussen, verändert werden. Das Arzneimittel Probenecid und einige seiner Stoffwechselprodukte können in die Gallenflüssigkeit abgegeben werden und dadurch die Ausscheidung von Indocyaningrün mit der Galle vermindern. Dies kann sich in verminderten Leberfunktionstestergebnissen widerspiegeln.

Die gleichzeitige Gabe verschiedener Arzneimittel und ICG-Pulsion® kann das Absorptionsverhalten von ICG-Pulsion® beeinflussen. Hierzu gehören: Medikamente gegen Krampfleiden (sogenannte Antikonvulsiva), bisulfithaltige Wirkstoffe, Haloperidol, Heroin, Meperidin, Metamizol, Methadon, Morphin, Nitrofurantoin, Opiumalkaloide, Phenobarbital, Phenylbutazon, Cyclopropan, Probenecid.

Gemäß der deutschen Fachinformation ist bei der Verabreichung (Injektion) in eine Vene, besonders darauf zu achten, dass die Injektionslösung nicht in das Gewebe übertritt, da schwere lokale Gewebeschädigungen verursacht werden können. Sollte es zu einem Übertritt der Lösung in das Gewebe kommen, so kann es zu über Stunden anhaltenden starken Schmerzen im und um den Injektionsort herum kommen. Bei Gewebeübertritt ist der Injektionsvorgang abubrechen, das geschädigte Gewebe zu behandeln und eine Schmerzlinderung herbeizuführen.

Unerwünschten Wirkungen bei intradermaler Anwendung von ICG-Pulsion®:

In dieser Studie wird Ihnen ICG nicht in eine Vene, sondern direkt in die Haut (intradermal) gespritzt. Generell können bei der intradermalen Anwendung dieselben Nebenwirkungen wie bei der intravenösen Anwendung auftreten. Die intradermale Anwendung von ICG-Pulsion® außerhalb der Zulassung zur Markierung der Wächterlymphknoten wird in der Routine bereits angewendet und dem Hersteller des ICG-Pulsion® ist die intradermale Anwendung von ICG-Pulsion bekannt. Weiterhin wurde die Anwendung von ICG-Pulsion® zur Markierung der Wächterlymphknoten bei Brustkrebs auch in mehreren klinischen Studien an Patienten erprobt. In der Literatur werden insgesamt 1273 Patienten beschrieben, die mit ICG intradermal oder subkutan (hier wird das ICG direkt unter die Haut injiziert) behandelt wurden. Sicherheitsinformationen liegen uns zu 683 Patienten vor. Zur intradermalen Anwendung von ICG liegen uns zu 176 Patienten Sicherheitsinformationen vor. Aus der Literatur sind keine Nebenwirkungen oder Risiken von ICG bei der intradermalen Anwendung bekannt. Der Herstellerfirma des ICG-Pulsion® liegen darüber hinaus keine Nebenwirkungen zur intradermalen Anwendung von ICG-Pulsion® vor. In einer großen, internationalen Datenbank zu Arzneimitteln ist die Routineanwendung von

ICG zur Markierung von Lymphgefäßen außerhalb der Zulassung ebenfalls beschrieben. Auch hier sind keine Nebenwirkungen zu ICG bei subkutaner Anwendung dokumentiert.

Daher ist aufgrund des derzeitigen Wissensstandes bei der subkutanen Anwendung in dieser Studie keine Gewebeschädigung zu erwarten.

Wie bei jeder Substanz können jedoch auch bei der intradermalen Anwendung von ICG-Pulsion® neue, bisher unbekannte Nebenwirkungen auftreten.

Risiken durch die studienbedingte Änderung des Operationsverfahrens:

Da sich die Anwendung von ICG-Pulsion® zum Auffinden des Wächterlymphknotens und zum Nachweis der Ausbreitung des Krebses in die Achselhöhle noch in der Erprobung befindet, werden Ihnen studienbedingt alle mit ICG-Pulsion® markierten Lymphknoten entnommen. Dadurch kann es auch sein, dass Ihnen mehr Lymphknoten entnommen werden, und dass auch mit ICG-Pulsion® markierte Lymphknoten entfernt werden, die nicht mit dem Krebs befallen sind.

Die Entfernung erfolgt dabei vorsichtig unter Fluoreszenz, um die Lymphgefäße nicht zu beschädigen. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass Lymphgefäße verletzt werden und ICG ins Gewebe übertritt. Die Risiken durch die zusätzliche Entnahme entsprechen denen der Routineentnahme von Lymphknoten (Bluterguss, Verletzung von kleinen Nerven, Gefäßverletzungen, Hautblutungen, Wundinfektion). Auch hatte ICG-Pulsion® in den bisherigen Anwendungen keine Auswirkungen auf die Wundheilung oder die postoperative Nachbehandlung. Daher sind für Sie durch die Entnahme von rein mit ICG-Pulsion® markierten Lymphknoten keine zusätzlichen, klinisch relevanten Risiken verbunden.

Durch die studienbedingte Verabreichung von ICG-Pulsion® und Entnahme von unterschiedlich markierten Lymphknoten kommt es zu keiner relevanten Verlängerung der Operationsdauer oder der Narkosedauer, so dass sich hier keine zusätzlichen Risiken ergeben.

Zusammenfassend überwiegt der Nutzen für die Studienteilnehmer.

Über die Risiken aller Maßnahmen und Untersuchungen, die nicht studienbedingt, sondern routinemäßig durchgeführt werden, werden Sie auch routinemäßig außerhalb dieser Patienteninformation aufgeklärt werden.

Wie werden Sie behandelt, wenn Sie nicht an dieser Studie teilnehmen?

Bei Ihnen ist zur weiteren Behandlungsplanung Ihrer Brustkrebserkrankung eine Markierung mit Entnahme der Wächterlymphknoten angezeigt. In der Routine wird Technetium für die Markierung verwendet. Wenn Sie nicht an der Studie teilnehmen möchten, erhalten Sie nur das radioaktive Technetium für die Markierung der Lymphknoten.

Welche Bedingungen müssen Sie bei einer Studienteilnahme einhalten?

Wenn Sie an dieser klinischen Studie teilnehmen möchten, müssen Sie die folgenden Bedingungen erfüllen:

Medikamente (auch rezeptfreie) oder Medizinprodukte, von denen der Prüfarzt noch nichts weiß, dürfen Sie – außer bei Notfällen – nur nach Rücksprache mit Ihrem Prüfarzt anwenden. Wenn Sie von anderen Ärzten behandelt werden, müssen Sie diese über Ihre Teilnahme an der klinischen Prüfung informieren. Auch Ihr Prüfarzt muss vor jeder medizinischen Behandlung, die Sie durch einen anderen Arzt während der klinischen Prüfung erhalten möchten, informiert werden.

Schwangere Frauen dürfen an dieser klinischen Prüfung **nicht teilnehmen**, da bislang nicht bekannt ist, ob ICG-Pulsion® zu einer Schädigung des Ungeborenen führen kann, wenn es während der Schwangerschaft angewendet wird. Eine begrenzte Zahl (insgesamt 12) von Schwangerschaften, während derer zwischen der 12. und 38. Schwangerschaftswoche Indocyaningrün angewendet wurde, zeigten keine unerwünschten Wirkungen von Indocyaningrün auf die Schwangerschaft oder auf die Gesundheit des Neugeborenen. Weitere Daten sind nicht bekannt. Fortpflanzungsstudien wurden nicht durchgeführt.

Alle Frauen müssen daher einen Schwangerschaftstest durchführen. Davon ausgenommen sind Frauen nach den Wechseljahren oder solche, die operativ sterilisiert wurden. Durch einen Schwangerschaftstest kann jedoch eine Schwangerschaft erst einige Tage nach der Empfängnis verlässlich nachgewiesen werden.

Im Falle Ihrer Teilnahme an dieser klinischen Prüfung müssen Sie während der Studienteilnahme zuverlässige Maßnahmen zur Schwangerschaftsverhütung anwenden. Diese sind:

- Hormonpräparate (sog. hormonelle Kontrazeptiva),
- Kombination mindestens zweier medizinisch anerkannter Verhütungsmethoden (sog. Doppelbarrieremethoden),
- in der Scheide wirkende Verhütungsmethoden,
- Enthaltbarkeit,
- beidseitige Unterbindung der Samenleiter ihres Sexualpartners mindestens 3 Monate vor Studienbeginn kombiniert mit einer Doppelbarrieremethode

Sollten Sie während der klinischen Prüfung schwanger werden oder den Verdacht haben, dass Sie schwanger geworden sind, müssen Sie umgehend den Prüfarzt informieren.

Auch stillende Frauen dürfen an dieser klinischen Prüfung nicht teilnehmen, da es nicht bekannt ist, inwieweit ICG-Pulsion® in die Muttermilch übertritt.

Wie werden Sie nach Studienende weiterbehandelt?

Ihre Behandlung nach Studienende, richtet sich nach Ihrem individuellen medizinischen Befund sowie dem Ermessen des behandelnden Prüfarztes und Ihrem Einverständnis, unabhängig davon, ob Sie alle Studienvisiten korrekt durchlaufen oder die klinische Prüfung vorzeitig beendet haben.

Welche Untersuchungen werden routinemäßig, d.h. weil sie bei Ihnen medizinisch angezeigt sind, durchgeführt?

Die allgemeine körperliche Untersuchung, die Erfassung Ihrer Vorgeschichte und Ihrer Begleitmedikation, die Verabreichung von Technetium sowie die Entnahme der radioaktiven gefärbten Lymphknoten, die Blutentnahmen, der Schwangerschaftstest bei Patientinnen im gebärfähigem Alter, werden routinemäßig durchgeführt. Über diese Routineuntersuchungen, deren genaue Abläufe sowie deren Dauer werden Sie außerhalb dieser Patienteninformation durch Ihren behandelnden Arzt gesondert aufgeklärt.

Welche Untersuchungen werden aus wissenschaftlichem Interesse und nur aufgrund dieser klinischen Studie bei Ihnen durchgeführt?

Die Verabreichung von ICG-Pulsion[®] sowie die Entnahme und gewebliche Untersuchung der nur mit ICG-Pulsion[®] markierten Lymphknoten werden aufgrund dieser Studie bei Ihnen durchgeführt.

Welche Rechte und welche Pflichten haben Sie bei einer Studienteilnahme?

Die Teilnahme an dieser klinischen Studie ist freiwillig. Sie können die Zustimmung zur Teilnahme jederzeit widerrufen. Eine Begründung ist nicht erforderlich und die Beendigung Ihrer Teilnahme wird das Vertrauensverhältnis zu Ihrem behandelnden Arzt in keiner Weise stören und Ihnen keinerlei Nachteile für die weitere ärztliche Behandlung bringen.

Sie werden über neue Erkenntnisse, die in Bezug auf diese klinische Prüfung bekannt werden und die für Ihre Bereitschaft zur weiteren Teilnahme wesentlich sein können, informiert. Auf dieser Basis können Sie dann Ihre Entscheidung zur weiteren Teilnahme an dieser klinischen Prüfung überdenken.

Damit Ihr Prüfarzt das Risiko Ihrer Teilnahme an dieser klinischen Studie richtig abschätzen kann, ist es wichtig, dass Sie möglichst genaue Angaben machen, welche Erkrankungen Sie schon hatten und welche Medikamente oder auch Drogen Sie außerhalb der klinischen Studie einnehmen. Sämtliche Änderungen diesbezüglich müssen Sie Ihrem Prüfarzt unverzüglich mitteilen.

Der wissenschaftliche Erfolg dieser klinischen Studie ist wesentlich davon abhängig, dass Sie sich an die Anweisungen Ihres Prüfarztes halten und alle Untersuchungstermine wahrnehmen, wozu Sie sich mit Ihrer Einwilligung zur Studienteilnahme verpflichten. Darüber hinaus dürfen Sie während der gesamten Studie nicht gleichzeitig an einer anderen klinischen Studie teilnehmen, damit Ihre eigene Sicherheit nicht gefährdet wird und die Studienergebnisse nicht verfälscht werden.

Der/die Prüfarzt/ärztin und der Sponsor haben das Recht, Sie aus Gründen Ihrer persönlichen Sicherheit oder der Sicherheit der klinischen Studie aus der klinischen Studie auszuschließen. Sollten Sie weitere Fragen zum Ablauf der klinischen Studie

oder zu Ihrem Inhalt haben, können Sie sich jederzeit an den/die Prüfarzt/ärztin wenden.

Entstehen für Sie Kosten durch die Teilnahme an der klinischen Prüfung?

Durch Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung entstehen für Sie keine zusätzlichen Kosten. Für Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung erhalten Sie keine Aufwandsentschädigung.

Besteht eine Versicherung während der Studienteilnahme?

Bei der klinischen Prüfung eines Arzneimittels sind alle Studienteilnehmer gemäß dem Arzneimittelgesetz versichert. Der Versicherungsschutz erstreckt sich nach den Allgemeinen Versicherungsbedingungen auf alle Gesundheitsschädigungen, die als Folge der klinischen Prüfung während und im Zeitraum bis zu 5 Jahre nach Abschluss Ihrer Teilnahme eintreten. Entsprechend den Allgemeinen Versicherungsbedingungen beträgt die Versicherungssumme höchstens 500.000 Euro pro Person. Ersetzt wird nur ein finanzieller Nachteil; dagegen wird kein Schmerzensgeld gezahlt.

Wenn Sie vermuten, dass durch die Teilnahme an der klinischen Prüfung Ihre Gesundheit geschädigt oder bestehende Leiden verstärkt wurden, müssen Sie dies unverzüglich dem Versicherer

Chubb Insurance Company of Europe SE
Barer Straße 7
80333 München
Tel: +49 89 54551 0
Fax: +49 89 54551 111
E-Mail [Chubb MUN@chubb.com](mailto:Chubb_MUN@chubb.com)

direkt anzeigen, gegebenenfalls mit Unterstützung durch Ihren Prüfarzt, um Ihren Versicherungsschutz nicht zu gefährden. Sofern Ihr Prüfarzt Sie dabei unterstützt, erhalten Sie eine Kopie der Meldung. Sofern Sie Ihre Anzeige direkt an den Versicherer richten, informieren Sie bitte zusätzlich Ihren Prüfarzt.

Bei der Aufklärung der Ursache oder des Umfangs eines Schadens müssen Sie mitwirken und alles unternehmen, um den Schaden abzuwenden und zu mindern.

Aufgrund des Versicherungsvertrages sind wir verpflichtet, Sie darauf aufmerksam zu machen, dass Sie den Anweisungen Ihres/r Prüfarztes/ärztin unbedingt Folge leisten und Gesundheitsstörungen Ihrem/r Prüfarzt/ärztin unverzüglich mitteilen müssen. Auch dürfen Sie sich, außer in Notfällen, einer anderen medizinischen Behandlung nur nach Rücksprache mit Ihrem/r Prüfarzt/ärztin unterziehen. (Notfall-) Behandlungen, die nicht durch Ihre/n Prüfarzt/ärztin erfolgt sind, müssen Sie diesem nachträglich unverzüglich melden. Eine Gesundheitsschädigung, die mutmaßlich auf die klinische Studie zurückzuführen ist, muss unverzüglich dem Versicherer angezeigt werden. Dies kann durch Sie selbst oder über Ihre/n Prüfarzt/ärztin in der Klinik erfolgen. Während der Dauer Ihrer Studienteilnahme dürfen Sie an keiner anderen klinischen Studie teilnehmen.

Ein Verstoß gegen diese Obliegenheiten kann für Sie den Verlust des Versicherungsschutzes bedeuten.

Sie erhalten ein Exemplar der Versicherungsbestätigung einschließlich der Versicherungsbedingungen.

Wie ist die Vertraulichkeit Ihrer Daten gesichert?

Sämtliche Daten und Informationen, die in dieser klinischen Studie erhoben werden und die personenbezogen bzw. gesundheitsbezogen sind, werden vertraulich behandelt.

Pseudonymisiert bedeutet, dass keine Angaben von Namen oder Initialen verwendet werden, sondern nur ein Nummern- und / oder Buchstabencode, evtl. mit Angabe des Geburtsjahres. Die Auswertung wird vom Auftraggeber der klinischen Studie oder einem von diesem bestimmten Vertreter organisiert, dem dazu die pseudonymisierten Daten zugeleitet werden. Nach der Auswertung werden die pseudonymisierten Daten vom Sponsor aufgrund der gesetzlichen Vorgaben gespeichert. Ihre Krankenakten werden gemäß Bürgerlichem Gesetzbuch max. 30 Jahre, aber mindestens 10 Jahre in dem Zentralarchiv Ihres Prüfzentrums archiviert.

Im Falle von Veröffentlichungen der Studienergebnisse (z.B. in medizinischen Fachzeitschriften) bleibt die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährleistet. Die Beachtung der Bundes- bzw. Landesdatenschutzgesetze der beteiligten Länder ist in vollem Umfang sichergestellt.

Unterlagen der klinischen Studie (die Einwilligungserklärung und eine Patienten-Identifizierungsliste), über die eine personenbezogene Zuordnung der erhobenen Daten möglich ist, verbleiben im Studienzentrum und sind nur den Mitarbeitern der Studie zugänglich. Alle Mitarbeiter der Studie, die in Ihre personenbezogenen Daten Einsicht nehmen dürfen, sind namentlich in einer Liste am Studienzentrum gelistet.

Gemäß den gesetzlichen Bestimmungen ist eine Teilnahme an der klinischen Studie nur zulässig, wenn Sie mit der Aufzeichnung Ihrer Krankheitsdaten und deren Weitergabe in pseudonymisierter Form an die zuständige lokale Überwachungsbehörde, die zuständige Bundesoberbehörde, die zuständige Ethikkommission und den Auftraggeber der klinischen Studie bzw. an einen Vertreter einverstanden sind. Im Falle eines meldepflichtigen Ereignisses werden Ihre pseudonymisierten Daten an die zuständige Bundesoberbehörde und von dieser an die Europäische Datenbank weitergegeben. Wenn Sie mit der beschriebenen Weitergabe und Aufbewahrung Ihrer pseudonymisierten Daten nicht zustimmen, können Sie nicht an der klinischen Studie teilnehmen.

Um sicher zu stellen, dass alle Daten korrekt aus den Originalunterlagen/Patienten-Akten in die Dokumentationsbogen übertragen wurden, können die Eintragungen in die pseudonymisierten Dokumentationsbogen durch Mitarbeiter staatlicher Behörden (sogenannter Inspektoren), sowie durch besonders geschulte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Mitarbeiter des Auftraggebers der klinischen Studie, sogenannter Monitore und Auditoren, mit den Originaldaten am Studienzentrum verglichen werden.

Mit Ihrer Einwilligung zur Teilnahme an dieser klinischen Studie entbinden Sie Ihren/e Prüf- arzt/ärztin gegenüber Mitarbeitern der zuständigen Behörden und besonders geschulte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Mitarbeiter des Auftraggebers (Monitore, Auditoren) von seiner Schweigepflicht insofern, als diese Personen zur Überprüfung der korrekten Daten- übertragung Einsicht in die im Rahmen dieser klinischen Prüfung erfolgten Originalauf- zeichnungen nehmen können.

Auch wenn Sie die Einwilligung zur Studienteilnahme widerrufen, werden die von Ihnen schon erhobenen Daten ausgewertet. Es wird bei Widerruf Ihrer Einwilligung geprüft, inwie- weit die von Ihnen bis dahin gespeicherten Daten für die klinische Prüfung noch erforderlich sein können. Werden die Daten nur noch in anonymisierter Form benötigt, erfolgt eine An- onymisierung Ihrer Daten. Werden Ihre Daten nicht mehr benötigt, werden die Daten unver-

zünftig gelöscht. Wenn Sie diesem Vorgehen nicht zustimmen, können Sie nicht an dieser klinischen Studie teilnehmen.
Auf Ihren Antrag hin können Sie die Ergebnisse der im Rahmen dieser klinischen Studie vorgenommenen Untersuchungen einsehen.

Das Arzneimittelgesetz enthält nähere Vorgaben für den erforderlichen Umfang der Einwilligung in die Datenerhebung und -verwendung. **Einzelheiten entnehmen Sie bitte der Einwilligungserklärung, die im Anschluss an diese Patienteninformation abgedruckt ist.**

An wen können Sie sich bei weiteren Fragen wenden?

Sie haben stets die Gelegenheit zu weiteren Beratungsgesprächen mit dem auf Seite 1 genannten oder einem anderen Prüfarzt.

Bitte fragen Sie Ihre/n Prüfarzt/ärztin, wenn Sie etwas nicht verstanden haben oder wenn Sie mehr über die eingesetzte Prüftherapie oder die Untersuchungen wissen möchten.

Es existiert außerdem eine Kontaktstelle bei der zuständigen Bundesoberbehörde. Teilnehmer an klinischen Prüfungen, ihre gesetzlichen Vertreter oder Bevollmächtigten können sich an diese Kontaktstelle wenden:

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte

Fachgebiet Klinische Prüfung / Inspektionen
Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3

53175 Bonn

Telefon: 0228 / 207-4318

Fax: 0228 / 207-4355

e-mail: klinpruefung@bfarm.de

.....
Ort, Datum

Unterschrift aufklärende/r Prüfarzt/ärztin



Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität
und am Universitätsklinikum Tübingen, Gartenstraße 47, 72074 Tübingen

Herrn
Martin Schirling
CenTrial GmbH
Otfried-Müller-Str. 45
72076 Tübingen

Medizinische Fakultät

Ethik-Kommission

Prof. Dr. med. D. Luft
Vorsitzender

Telefon: +49 7071 29-77661
Telefax: +49 7071 29-5965
E-Mail:
ethik.kommission@med.uni-tuebingen.de

Nachrichtlich:
BfArM

478/2011AMG1
unsere Projekt-Nummer

16.09.2011, 11.10.2011
eingegangen am

11.10.2011
Datum

Protokoll Nr.:
EudraCT Nr.:
Studientitel:

PULSION-001
2011-003194-28
Determination of the sensitivity of ICG fluorescence technique for the detection of Sentinel Lymph Nodes in breast cancer - a monocenter, prospective open-label clinical trial.

Sponsor:

PULSION Medical Systems SE, München

Antragsteller:

Martin Schirling, CenTrial GmbH

Leiter der klin. Prüfung:
zuständige Ethik-Kommission:

Herr Prof. Dr. D. Wallwiener
Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät und am Universitätsklinikum Tübingen

Auflistung der eingereichten Unterlagen s. Seite 2 und 3

Sehr geehrter Herr Schirling,

die Unterlagen zur o.g. Studie hatten den Mitgliedern der Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät und am Universitätsklinikum Tübingen in der Sitzung am 05.09.2011 als zuständiger Kommission zur Beratung vorgelegen.

Die Ethik-Kommission hatte mit Schreiben vom 09.09.2011 um Ergänzungen im Prüfplan und in der Patienteninformation gebeten. Mit Ihrem Schreiben vom 07.10.2011, dem überarbeiteten Protokoll und der geänderten Patienteninformation wurden die Anregungen der Ethik-Kommission umgesetzt.

Danach erteilt die Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät und am Universitätsklinikum Tübingen als federführende Kommission der vorliegenden Studie eine zustimmende Bewertung.

Versagensgründe nach § 42 Abs. 1 Satz 7 Nr. 1-3 AMG liegen nicht vor.

Universitätsklinikum Tübingen
Anstalt des öffentlichen Rechts
Sitz Tübingen
Geissweg 3 · 72076 Tübingen
Telefon +49 7071 29-0
www.medizin.uni-tuebingen.de
Steuer-Nr 86156/09402
US-ID: DE 146 889 674

Aufsichtsrat
Theresia Bauer
(Vorsitzende)

Vorstand
Prof. Dr. Michael Bamberg (Vorsitzender)
Gabriele Sonntag (Stellv. Vorsitzende)
Prof. Dr. Karl Ulrich Bartz-Schmidt
Prof. Dr. Ingo B. Autenrieth
Jana Luntz

Banken
Baden-Württembergische Bank Stuttgart
(BLZ 600 501 01) Konto-Nr. 7477 5037 93
IBAN: DE41 6005 0101 7477 5037 93
SWIFT-Nr.: SOLADEST
Kreissparkasse Tübingen
(BLZ 641 500 20) Konto-Nr. 14 144
IBAN: DE79 6415 0020 0000 0141 44
SWIFT-Nr.: SOLADES1TUB

Diese zustimmende Bewertung gilt für das Prüfzentrum Universitäts-Frauenklinik, Calwerstraße 7, 72076 Tübingen, den Hauptprüfer: Herrn Prof. Dr. med. Diethelm Wallwiener und die beteiligten Prüfärzte und Prüfärztinnen: Frau Professor Tanja Fehm, Frau Dr. med. Carmen Mewald-Röhm, Herrn Dr. med. Jürgen Hoffmann und Frau Dr. med. Gisela Helms.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. med. Dieter Luft
Vorsitzender der Ethik-Kommission

ALLGEMEINE HINWEISE ZUM VOTUM DER ETHIK-KOMMISSION

Mitglieder der Ethik-Kommission

Privatdozent Dr.med. Margitta Albinus	Pharmakologie, Toxikologie
Professor Dr.med. Holger Lerche	Neurologie
Professor Dr.med. Henner Giedke	Psychiatrie
Professor Dr.med. Else Heidemann	Innere Medizin
Professor Dr.med. Jürgen Honegger	Neurochirurgie
Professor Dr.med. Dieter Luft	Innere Medizin
Professor Dr.med. Christian F. Poets	Kinderheilkunde
Professor Dr.iur. Dr.h.c. Georg Sandberger	Medizinorganisationsrecht, Hochschulrecht, deutsches und internationales Wirtschaftsrecht
Professor Dr. Dr. Dr.h.c. Norbert Schwenger	Zahnheilkunde, Kieferchirurgie
Professor Dr.med. Dr.phil. Urban Wiesing	Medizinische Ethik und Theoretische Medizin

Die Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen verfährt entsprechend den GCP-/ICH- Richtlinien, der Deklaration von Helsinki in der jeweils gültigen Fassung sowie den gesetzlichen Bestimmungen.

Die Ethik-Kommission ist gemäß § 20 Abs. 7 MPG, Aktenzeichen: Z14-A1871-14924/97, gemäß § 92 Strahlenschutzverordnung, Aktenzeichen: Z 2.1.2-22471/2-EK-012-Ber und gemäß § 28g der Röntgenverordnung, Aktenzeichen: Z 2.1.2-22472/2.EK-013/R registriert.

Die Ethik-Kommission bestätigt, dass der Prüfplan mit den erforderlichen Unterlagen, insbesondere nach ethischen und rechtlichen Gesichtspunkten, mündlich beraten wurde. Bei der Beratung wurden die §§ 7 und 8 der GCP-V und die §§ 40, 41 und 42 AMG beachtet.

Die Ethik-Kommission Tübingen übernimmt als federführende Ethik-Kommission die gesetzlichen Aufgaben während der Studiendurchführung. Änderungen im Prüfplan und in der Phase der Umsetzung bitten wir der Kommission mitzuteilen; dabei wären wir Ihnen dankbar, wenn Sie geänderte Passagen deutlich kennzeichnen würden.

Die Ethik-Kommission weist auf die Allgemeine Anzeigepflicht nach § 67 AMG hin.

Unabhängig vom Beratungsergebnis macht die Ethik-Kommission darauf aufmerksam, dass die medizinische, ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung einer klinischen Prüfung beim Leiter der klinischen Prüfung und auch bei allen an der Prüfung teilnehmenden Ärzten liegt.

Nach Abschluss der Studie bittet die Kommission um einen abschließenden Bericht.

Auflistung der eingereichten Unterlagen:

Eingang: 16. August 2011

Anschreiben vom 15.08.2011

Checkliste

Vollmacht des Sponsors, unterschrieben am 04.07.2011

Modul 1

Modul 2, unterschrieben am 25.07.2011

Bestätigungsschreiben zur EudraCT-Nummer vom 04.07.2011

Synopsis vom 21.07.2011, Version Nr. 1.0 DE

Protokoll vom 21.07.2011, Version Nr. 1.0

Fachinformation ICG-Pulsion® Stand März 2010

Gebrauchsinformation und Fachinformation Nancoll, zuletzt überarbeitet 06/2010

Patienteninformation, Finale Version 1.0 vom 21.07.2011

Einwilligungserklärung, Finale Version 1.0 vom 21.07.2011

Sponsorbestätigung zum Datenschutz, Version 4.5, unterschrieben am 11.07.2011

Einbeziehung abhängiger Personen, Version 4.5, unterschrieben am 11.07.2011

Angaben und Unterlagen zum Qualifikationsnachweis einer Prüfstelle/eines Prüfers:
Version 3.0, Datum 07.06.2010

Versicherungsbestätigung zur Probanden-Versicherung Nr. 35881627 der Firma Chubb Insurance Company Of Europe SE vom 13.07.2011 mit Allgemeinen Versicherungsbedingungen
Vertragsmuster zur Studie

Sponsorenerklärung zum Datenschutz, unterschrieben am 04.07.2011

Kostenübernahmeerklärung des Sponsors, unterschrieben am 04.07.2011

CD

Eingang: 10. Oktober 2011

Anschreiben vom 07.10.2011

Protokoll vom 29.09.2011, Version Nr. 1.1 (clean and track version)

Patienteninformation, Finale Version 1.1 vom 29.09.2011 (clean and track version)

CD

Modul 1, unterschrieben am 07.10.2011

14. Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Dissertationsschrift resultiert aus den Daten einer monozentrischen prospektiven nicht randomisierten Studie (Phase-II-Studie). Ziel der Studie war es, im Rahmen der Sentinel-Lymphknoten-Detektion beim frühen Mammakarzinom das Standardverfahren mittels Technetium (^{99m}Tc Nanocoll®) gegenüber einem Fluoreszenzfarbstoff in Form von Indocyaningrün (ICG der Firma Pulsion) zu überprüfen. Wesentliche Parameter dabei waren Effektivität und Sicherheit der ICG-Lymphangiographie im Rahmen der Detektion sowie die Spezifität gegenüber dem Standard Technetium. Frau Röhme war dabei entscheidend als erfahrene Brustchirurgin bei der Erstellung des Prüfprotokolls beteiligt. Wesentliche Faktoren waren dabei die Ausarbeitung des praktischen Vorgehens und die Dokumentation bei der intraoperativen Applikation von ICG. Neben der Erstellung einer Lernkurve bei der praktischen Durchführung der Detektion war Frau Röhme maßgeblich bei der Etablierung von Kriterien beteiligt, die eine Vergleichbarkeit mit Technetium ermöglichten.

In der vom 17.11.2011 (Datum der Studieninitiation) bis zum 12.01.2013 (Studienabschluss) eingeschlossenen Patientinnen hatte Frau Röhme einen wesentlichen Teil der Patientinnen selbst im Rahmen der Studie erfasst, die Markierungen selbst durchgeführt und in der Folge die mammachirurgische Intervention komplettiert. Daraus resultierend war ein großer Anteil der Patientinnen-Dokumentation durch sie erfolgt. Bedingt durch ihre klinische Erfahrung hatte sie die Auswertung der Studiendaten maßgeblich geprägt und auch anteilmäßig selbstständig durchgeführt. Ein wesentlicher Anteil der Abbildungen, die teilweise auch im Vorfeld im Rahmen von Vorträgen entstanden sind, hatte sie erstellt. Die Daten resultierten in einer Publikation 08/2015 in der Zeitschrift Geburtshilfe und Frauenheilkunde, bei der Frau Röhme als Zweitautorin maßgeblich beteiligt war.

Im Rahmen der Diskussion hat Frau Mewald-Röhme eigenständig die gesamte Literatürübersicht zusammengestellt und die eigenen Daten im Kontext diskutiert. Daraus resultiert auch die entsprechende Wertung der Methode im klinischen Einsatz.

15. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich während der gesamten Zeit stets motiviert und unterstützt hat, vor allem mein Sohn Jonathan – der in dieser Zeit viel Verständnis aufgebracht hat. Besondere Unterstützung fand ich bei Prof. Wallwiener und Prof. Grischke, für die konzeptionelle Unterstützung. Dem OP-Team danke ich vor allem für die praktische Unterstützung bei der Umsetzung der Studie im OP-Bereich sowie für die Geduld des apparativen und zeitlichen Mehraufwandes.

Nicht zuletzt gilt mein Dank den Patientinnen, die bereit waren in die Durchführung der Fluoreszenztechnik einzuwilligen.

