

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Fachbereich Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt)
Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**„Wertigkeit der additiven Anwendung eines Vitalfarbstoffes (Patentblau) im Rahmen
der Gammasonden-gestützten Sentinel-Lymphknotenbiopsie“**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2016

vorgelegt von: Andrej Matthies

geboren am: 13.01.1986 in Emanschelinsk (Russische Föderation)

1. ZUSAMMENFASSUNG	5
1.1. Zusammenfassung	5
1.2. Summary.....	6
2. EINLEITUNG.....	7
2.1. Klinische Bedeutung des malignen Melanoms	7
2.2. Epidemiologie des Melanoms	8
2.3. Ätiologie des malignen Melanoms	8
2.4. Histologische Melanomtypen	9
2.5. Stadieneinteilung des malignen Melanoms	10
2.6. Prognostische Faktoren	12
2.6.1. Prognostische Parameter des Primarius	12
2.6.2. Status des Sentinel-Lymphknotens	12
2.6.3. Weitere prognostische Faktoren.....	13
2.7. Diagnostik des malignen Melanoms	14
2.7.1. Klinische Untersuchung.....	15
2.7.2. Diagnostik mittels bildgebender Verfahren	15
2.7.3. Schildwächter-Lymphknoten-Biopsie	15
2.7.3.1. Historie der SLNB.....	16
2.7.3.2. Durchführung der SLNB	16
2.7.3.3. Wertigkeit der SLNB	17
2.7.4. Weitere diagnostische Verfahren	18
2.8. Therapie des malignen Melanoms.....	18
2.8.1. Operation des Primärtumors	19
2.8.2. Metastasen Chirurgie und adjuvante Therapie	19
2.8.3. Palliative Therapie	19
2.9. Tumornachsorge	20
2.10. Studienziele	21
3. PATIENTEN UND METHODEN.....	22
3.1. Auswahl der Stichprobe	22
3.1.1. Selektionskriterien	22
3.2. Operationstechnik	24
3.2.1. Lymphabstromszintigraphie.....	24
3.2.2. Sentinel-Lymphknotenbiopsie	25
3.3. Histologische Aufarbeitung der Wächterlymphknoten:	26
3.4. Datenerfassung.....	27

3.5. Statistische Analyse	28
4. ERGEBNISSE	29
4.1. Charakterisierung der Stichprobe, ausgeschlossene Patienten	29
4.2. Demographische und Tumor-Charakteristika der Stichprobe	30
4.2.1. Größe der Stichprobe, Patientenalter und Geschlecht	30
4.2.2. Tumor-Parameter	31
4.2.2.1. Melanom-Typ	31
4.2.2.2. Tumordicke (Breslow), Invasionslevel nach Clark u. Primariusulzeration	31
4.2.2.3. Lokalisation des Primärtumors	32
4.3. TNM-Stadien	34
4.3.1. T-Klassifikation	34
4.3.2. N-Klassifikation	34
4.4. Sentinel-Lymphknotenbiopsie	35
4.4.1. Intraoperativ gemessene Radioaktivität der Primärtumorregion und der exstirpierten Lymphknoten	35
4.4.2. Charakterisierung der exstirpierten Lymphknoten	36
4.4.3. Lokalisationen der Sentinel-Lymphknoten	38
4.4.3.1. Vergleich der nuklearmedizinisch markierten SLN-Bassins mit den intraoperativ gefundenen Sentinels	38
4.4.3.2. Lokalisationen der exstirpierten Sentinel-Lymphknoten	39
4.4.4. Histologische Untersuchung der entnommenen Lymphknoten	39
4.5. Subgruppen-Analyse Gruppe A	41
4.5.1. Patentblau-Färberate	41
4.5.2. Korrelation der Patentblau-Färbung mit der Radioaktivität	42
4.5.3. Korrelation der Patentblau-Färbung mit dem histologischen Ergebnis	44
4.5.4. Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis	45
4.5.5. Nebenwirkungen des Farbstoffs	45
4.6. Subgruppen-Analyse Gruppe B:	46
4.6.1 Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis	46
4.7. Klinische Nachbeobachtung, prognostische Relevanz des Einsatzes von Patentblau	46
5. DISKUSSION	50
5.2. Diskussion der Methoden	51
5.2.1. Operatives Vorgehen	51
5.2.2. Histologische Aufarbeitung	53
5.2.3. Nuklearmedizinische Markierung des SLN	54
5.2.4. Patentblau-Farbstoff	54
5.2.5. Färbung der SLN	57

5.3. Repräsentativität der Stichprobe.....	57
5.3.1. Patientenalter und Geschlechtsverteilung	57
5.3.2. Primärtumorhistologie, Tumordicke nach Breslow und Primärtumorlokalisation... 58	
5.3.3. Nuklearmedizinische SLN-Markierung	60
5.3.4. Lymphknoten-Status.....	61
5.3.4.1. SLN-Status	61
5.3.4.2. NLN und NLN-Status.....	62
5.4. Diskussion der Ergebnisse	62
5.4.1. Korrelation der Histologie mit der Radioaktivität und der Färbung	62
5.4.2. Einfluss der Vitalfärbung mit Patentblau auf die Detektionsrate.....	63
5.4.3. Einfluss der Vitalfärbung mit Patentblau auf die Prognose	63
5.6. Zusammenfassung	65
6. LITERATURVERZEICHNIS	67
7. ANHANG.....	82
7.1. Abbildungsverzeichnis	82
7.2. Abkürzungen.....	83
7.3. Stammblatt zur Datenerfassung	85
8. DANK	89
9. LEBENSLAUF.....	90

1. ZUSAMMENFASSUNG

1.1. Zusammenfassung

Fragestellung: Evaluation der Wertigkeit eines zusätzlichen Einsatzes von Patentblau im Rahmen der Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB) im Hinblick auf die Sentinel-Lymphknoten-Detektionsraten, die Rate falsch-negativer SLNB, die perioperativen Komplikationen und das Überleben (Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben).

Methoden: Anhand von Operationsberichten aller im Zeitraum von Januar 2008 bis Dezember 2010 an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Universitätsklinik des Saarlandes durchgeführten Sentinel-Lymphknotenbiopsien wurden Patienten mit Doppelmarkierung (Patentblau und ^{99m}Tc-Nanocoll) und Einzelmarkierung (^{99m}Tc-Nanocoll) identifiziert. Mit Hilfe dieser Stichprobe konnten Daten von jeweils 100 Patienten (Gruppe A Doppelmarkierung, Gruppe B Einzelmarkierung) in einer Datenbank zusammengefasst und retrospektiv analysiert werden. Mit einer medianen Nachbeobachtungszeit von 30 Monaten (A) und 40 Monaten (B) wurden alle für diese Studie selektierten Patienten im Rahmen der dermato-onkologischen Nachsorge weiter verfolgt. Die Nachbeobachtungszeit endete im Dezember 2012.

Ergebnisse: Im Mittel wurden 1,77 (A) bzw. 1,72 (B) Sentinel-Lymphknoten (SLN) exstirpiert. Ein signifikanter Unterschied konnte hierbei nicht festgestellt werden ($p=0,905$). Der Unterschied der Rate der histologisch und immunhistochemisch positiven SLN (Gruppe A 14,4% positive SLN, Gruppe B 16,3% positive SLN, $p=0,768$) zwischen beiden Gruppen zeigte keine Signifikanz. Ein positiver SLN-Status fand sich bei 21% (A) bzw. bei 26% (B) der Patienten ($p=0,404$). Es konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Perioperative Komplikationen wie Anaphylaxien auf Patentblau wurden nicht registriert. Die Rate an falsch-negativen SLNB betrug in Gruppe A 1,3%, in Gruppe B 0%. Gruppe A und B zeigten sowohl hinsichtlich des rezidivfreien Überlebens ($p=0,172$) als auch des fernmetastasenfreien Überlebens ($p=0,140$) und des Gesamtüberlebens ($p=0,410$) keine signifikanten Unterschiede.

Schlussfolgerungen: Es ließen sich keine signifikanten Vorteile bei dem zusätzlichen Einsatz von Patentblau im Hinblick auf die Detektionsrate, die Rate histologisch positiver Sentinel-Lymphknoten, den patientenbezogenen Sentinel-Status und die Rate falsch-negativer SLN herleiten. Bezüglich des rezidiv- und fernmetastasenfreien Überlebens zeigt sich ein Trend zugunsten der Doppelmarkierung.

1.2. Summary

„Value of the additive application of vital dye (patent blue) as part of the gamma probe-guided sentinel lymph node biopsy“

Background: Evaluation of the value of an additional use of patent blue as part of the sentinel lymph node biopsy (SLNB) with regard to the sentinel lymph node detection rate, the rate of false-negative SLNB, the perioperative complications and survival (overall survival and progression-free survival).

Methods: Based on the operation reports of all patients, who underwent a sentinel lymph node dissection between January 2008 and December 2010 at the Department of Dermatology at the University Hospital of Saarland (Germany), a collective of 200 patients was identified and separated in two evenly divided groups (Group A double labelling with ^{99m}Tc -Nanocoll and application of Patentblue, Group B singular application of ^{99m}Tc -Nanocoll). This sample has been summarized in a database for a retrospective evaluation. The median follow-up time was 30 months (A) and 40 months (B) respectively. It has been completed on December 2012.

Results: The mean number of harvested sentinel lymph nodes (SLN) was 1,77 (A) and 1,72 (B) ($p=0,905$). The difference in the rate of histological and immune-histological positive SLN (group A 14,4% vs. group B 16,3%, $p=0,768$) between both groups was not significant either. A positive SLN-Status was detected in 21% (A) and 26% (B) patients ($p=0,404$). Perioperative complications such as anaphylaxis to patent blue did not occur. This study showed a false-negative rate of 1,3% (A) and 0% (B). Regarding the recurrence-free survival ($p=0,172$), as well as the distant metastasis-free survival ($p=0,140$) and the overall survival ($p=0,410$) there were no significant differences between group A and B.

Conclusion: There were no measurable benefits in the additional use of patent blue dye in terms of the detection-rate, the rate of the histological positive SLN, the patient-related sentinel status and the rate of false-negative SLN. With regard to the recurrence and distant metastasis-free survival there was a trend in favour of double-marking.

2. EINLEITUNG

Das maligne Melanom (MM), oder auch schwarzer Hautkrebs, ist ein bösartiger Tumor der Haut.

Der Name geht auf dessen Erstbeschreiber den französischen Arzt René Laennec aus dem Jahre 1804 zurück, der sowohl das Wort Melanom prägte als auch die ersten pulmonalen Metastasen des Melanoms bei einem Patienten diagnostizierte.

Ausgangspunkt dieses Tumors sind die pigmentproduzierenden Zellen der Haut, die sogenannten Melanozyten. Die überwiegende Lokalisation des Melanoms ist zu 90% die Haut, aber grundsätzlich können in allen Geweben, die Melanozyten enthalten, MM entstehen, wie z.B. an den Schleimhäuten im Kopf- und Genitoanalbereich (Vagina und Präputium), den Meningen des zentralen Nervensystems (ZNS), im Magen-Darm-Trakt und am Auge (Retina und Uvea).

Der Ursprung aus dem melanozytärem Zellsystem erklärt auch die meist bräunliche bis schwarze Pigmentierung des Melanoms. Die Farbgebung kann aber durchaus variieren, sodass auch rote, graubräunliche und weiße (amelanotisches MM) Veränderungen beobachtet werden.[84]

2.1. Klinische Bedeutung des malignen Melanoms

Das MM gilt als der bösartigste unter den Hauttumoren, da es frühzeitig zur Bildung von Metastasen neigt. Die Metastasierung erfolgt in der Regel primär lymphogen, seltener primär hämatogen.

Prädisponierende Faktoren sind vor allem eine hohe intermittierende UV-Exposition (vor allem häufige Sonnenbrände in der Kindheit) und genetische Faktoren.

In Deutschland beträgt die jährliche Inzidenz aktuell 10-12/100000. So belegt das maligne Melanom den fünften Platz bei den Frauen und den achten bei den Männern unter den häufigsten soliden Tumoren. Nach wie vor ist eine kontinuierliche Zunahme an Melanom-Erkrankungen zu verzeichnen, während die Sterberaten der vergangenen Jahre stabil bleiben. Dies lässt sich auf eine zunehmende Sensibilisierung der Bevölkerung und Früherkennung von Melanomen mit geringer Tumordicke zurückführen.

Die Überlebensraten sinken mit dem Grad der Metastasierung angefangen von einer Zehn-Jahres-Überlebensrate von 30-70% bei Mikrometastasen in regionalen Lymphknoten bis hin zu einer medianen Überlebenszeit von maximal neun Monaten bei Fernmetastasierung.[40]

Studien zeigen erste Erfolge in der palliativen Therapie des metastasierten MM mit BRAF-Inhibitoren (wie beispielsweise Vemurafenib, Dabrafenib), sowie MEK-Inhibitoren (Trametinib).[87][30] Studien mit immunmodulatorischen Antikörpern wie Ipilimumab, ein CTLA-4-Inhibitor, zeigten eine Verlängerung der medianen Überlebenszeit.[70]

2.2. Epidemiologie des Melanoms

Das maligne Melanom ist neben dem Basalzellkarzinom (BCC) und dem Plattenepithelkarzinom (PEC) der dritthäufigste Hauttumor.[38]

In Deutschland beträgt der Anteil des MM 1,5 – 2% aller bösartigen Neubildungen, jedoch ist die Inzidenz in den vergangenen 30 Jahren stark zunehmend. Während die jährliche Neuerkrankungsrate in den siebziger Jahren bei ca. 2-3/100.000 Einwohner lag, beträgt diese aktuell 10-12/100.000. In manchen Ländern liegt sie sogar höher. So beträgt die Häufigkeit in den skandinavischen Ländern 15/100.000 Einwohner pro Jahr.[34] Die höchste Neuerkrankungsrate herrscht in Australien vor. Hier ist das MM mit einer Anzahl von Neuerkrankungen von ca. 47/100.000 Fällen bei Männern der vierthäufigste Tumor und bei 34/100.000 Fällen der dritthäufigste Tumor der Frauen.[71]

Im Gegensatz zum BCC und PEC der Haut, ist das MM weniger eine bösartige Neubildung des älteren Menschen, sondern kommt vor allem in den mittleren Jahren vor. Das mediane Erkrankungsalter beträgt bei Frauen 55 Jahre und bei Männern 57 Jahre.[39]

Unterschiede bestehen jedoch darin, in welchem Lebensalter die jeweiligen klinisch-histologischen Subtypen diagnostiziert werden (siehe Tabelle1).

Stiegen die Mortalitätszahlen weltweit in allen Altersgruppen (20 bis 44-Jährige und 45 bis 64-Jährige) von 1955 bis Mitte der Achtziger hinein noch kontinuierlich mit einer jährlichen Rate von 2-4% an, ist seit Ende der Achtziger eine Stabilisierung der Mortalitätszahlen in vielen Ländern, darunter USA, Großbritannien, Nordeuropa und Kanada zu verzeichnen.[71]

In Europa beträgt die Mortalitätsrate aktuell 2,6/100.000 Einwohner bei der männlichen Bevölkerung und 2,0/100.000 Einwohner bei der weiblichen Bevölkerung pro Jahr.

90% der hautkrebsbedingten Todesfälle sind auf das maligne Melanom zurückzuführen.[36]

2.3. Ätiologie des malignen Melanoms

Wichtige Risikofaktoren bei der Entstehung des MM sind neben der Anzahl der vorhandenen melanozytären Nävi auch der jeweilige Hauttyp.[103]

Laut einer Studie von Garbe et al. erhöht sich das Risiko eines Patienten mit einer Gesamtanzahl von mehr als 50 typischen melanozytären Nävi ein MM zu entwickeln um den Faktor 3,7 gegenüber einem Patienten mit weniger als zehn typischen melanozytären

Nävi. Bei mehr als vier atypischen melanozytären Nävi erhöht sich das Risiko darüberhinaus um den Faktor 7,6.[32]

Weitere prädisponierende Faktoren sind Hauttypen vom Typ 1 oder 2 nach Fitzpatrick und rotes oder blondes Haupthaar.[32] Während Personen mit einer stark pigmentierten Haut (wie z.B. Afrikaner und Asiaten) ein verhältnismäßig geringes Risiko haben an schwarzem Hautkrebs zu erkranken, steigt das Risiko innerhalb der weißen Bevölkerung auf das zehn bis 100-fache an. Ein weiterer Risikofaktor sind vorhandene Epheliden. Sie lassen das Risiko ein Melanom zu entwickeln (vor allem bei Personen unter 40 Jahren) auf das dreifache steigen. Helle Augenfarbe (erhöht das Risiko um 50%) und ein heller Hauttyp (blond oder rot) steigern die Wahrscheinlichkeit des Auftretens. Es wird diskutiert, ob bestimmte Polymorphismen des Melanocortin-1-Rezeptor-Gens (MC1R), die mit roten oder blonden Haaren assoziiert sind, eine entscheidende Rolle bei der Entstehung zumindest eines Teils der MM spielen.[85] Erhöhte Sonnenbestrahlung und Sonnenbrände in der Kindheit und im jungen Erwachsenenalter erhöhen das Risiko einer Melanomentstehung.[33][111]

Vor allem intermittierende Sonnenexposition (OR [Odd's Ratio]=1,71) und schwere Sonnenbrände (OR=1,95 Erwachsene, OR=1,73 für Jugendliche und OR=1,95 für Kinder) gelten als Hauptursachen bei der Ausbildung des kutanen MM.[28]

Etwa 8-12% der malignen Melanome entstehen laut Goldmann et al. bei Personen mit einer genetischen Prädisposition. Es kann somit von einer familiären Häufung ausgegangen werden. Bereits der englische Arzt und einer der Erstbeschreiber des malignen Melanoms William Norris ging von einer familiären Disposition beim Auftreten des malignen Melanoms aus.

Haben zwei Verwandte ersten Grades ein malignes Melanom und liegt das so genannte dysplastische Nävussyndrom (im angloamerikanischen Raum besser bekannt als das Familial Atypical Multiple Mole and Melanoma syndrome [FAMMM-Syndrom]) vor, haben Betroffene ein um 500-fach erhöhtes Risiko an einem MM zu erkranken. Das Lebenszeitrisiko der Personen beträgt mehr als 50%. Es wird davon ausgegangen, dass Loci auf Chromosom 1p und 9p für die familiäre Häufung des Melanoms verantwortlich sind.[45]

Durch eine Mutation auf Chromosom 9p21 kommt es zum Ausfall des Gens INK4A, welches das Protein CDKN2A kodiert und aufgrund seiner antiproliferativen Funktion als Tumorsuppressorgen angesehen wird. Das Protein CDKN2A inhibiert proliferationsfördernde Kinasen in der G1-Phase eines Zellzyklus.[88]

2.4. Histologische Melanomtypen

Die klinisch-histologische Einteilung des MM erfolgt in vier Hauptgruppen, die etwa 90% der Melanome darstellen.

Es handelt sich dabei um das superfiziell spreitende Melanom (SSM), das noduläre Melanom (NMM), das Lentigo-maligna-Melanom (LMM) und das akrolentiginöse Melanom (ALM).

Die Häufigkeit des Auftretens und das mittlere Alter bei Diagnosestellung variieren zwischen den jeweiligen Subtypen. Ein Überblick hierüber ist in Tabelle 1 dargestellt.[98]

Weiterhin existieren Sonderformen des MM zu denen u. a. das amelanotische maligne Melanom, das Ader- und Schleimhautmelanom und das unklassifizierbare maligne Melanom (UCM) gehören.

Tabelle 1: Histologische Typen des Melanoms, Häufigkeit und Alter bei Diagnosestellung[98]

Klinisch-histologischer Subtyp	Häufigkeit	Medianes Alter bei Diagnosestellung (Jahre)
Superfiziell spreitendes Melanom (SSM)	60%	51
Noduläres Melanom (NMM)	20%	56
Lentigo-maligna-Melanom (LMM)	9%	68
Akrolentiginöses Melanom (ALM)	4%	63

2.5. Stadieneinteilung des malignen Melanoms

Die Einteilung des malignen Melanoms folgt den Kriterien des American Joint Committee on Cancer Staging System for Malignant Melanoma (AJCC) in der aktuellen Fassung aus dem Jahr 2009 (Tabelle 2).[6] Der histologische Sentinel-Lymphknoten-Status als relevanter Staging-Parameter findet sich erstmals in der AJCC-Klassifikation von 2001.[5]

Tabelle 2: AJCC-Stadien [7]:

Stadium	Primärtumor (pT)	Metastasen regionärer Lymphknoten (N)	Fernmetastasen (M)
0	In situ Tumor (Tis)	Keine (N0)	Keine (M0)
IA	Tumordicke ≤1mm, keine Ulzerationen (pT1a)	Keine (N0)	Keine (M0)
IB	Tumordicke ≤1mm mit Ulzerationen oder ≥ 1 Mitose/mm ² (pT1b)	Keine (N0)	Keine (M0)
	Tumordicke 1,01-2,0mm, keine Ulzerationen (pT2a)	Keine (N0)	Keine (M0)
IIA	Tumordicke 1,01-2mm mit Ulzerationen (pT2b)	Keine (N0)	Keine (M0)
	Tumordicke 2,01-4mm keine Ulzerationen (pT3a)	Keine (N0)	Keine (M0)
IIB	Tumordicke 2,01-4mm mit Ulzerationen (pT3b)	Keine N(0)	Keine (M0)
	Tumordicke >4mm keine Ulzerationen (pT4a)	Keine (N0)	Keine (M0)
IIC	Tumordicke >4mm mit Ulzerationen (pT4b)	Keine (N0)	Keine (M0)
IIIA	Jede Tumordicke, keine Ulzerationen (pT1-4a)	Mikrometastasen (pN1a) Makrometastasen (pN2a)	Keine (M0)
IIIB	Jede Tumordicke, mit Ulzerationen (pT1-4b)	Mikrometastasen (pN1a) Makrometastasen (pN2a)	Keine (M0)
	Jede Tumordicke, keine Ulzerationen (pT1-4a)	bis zu 3 Makrometastasen (pN1b/pN2b)	Keine (M0)
	Jede Tumordicke, ohne Ulzerationen (pT1-4a/pT1-4b)	Keine Lymphknoten- aber Satelliten- und/oder in-transit Metastasen (pN2c)	Keine (M0)
IIIC	Jede Tumordicke, mit Ulzerationen (pT1-4b)	bis zu 3 Makrometastasen (pN1b/pN2b)	Keine (M0)
	Jede Tumordicke, mit/ohne Ulzerationen (pT1-4a/pT1-4b)	Vier oder mehr Makrometastasen (N3), oder kapselüberschreitende Lymphknoteninfiltration, oder Satelliten- und /oder in-transit Metastasen mit Lymphknoteninfiltration	Keine (M0)
IV			Vorhanden (M1) M1a: Kutane, subkutane oder Lymphknotenmetastasen M1b: pulmonale Metastasen M1c: sonstige viszerale Metastasen

2.6. Prognostische Faktoren

Seit Jahren ist ein kontinuierlicher Anstieg der Patienten zu beobachten, die mit einem Primärtumor im Frühstadium identifiziert werden können.

2.6.1. Prognostische Parameter des Primarius

Ein wichtiger prognostischer Parameter des MM ist die Tumordicke nach Breslow, worauf u.a. Studien von Volkenandt et al. und Barnhill et al. hinweisen.[108][9]

Diese wird von der oberen Körnerschicht (Stratum granulosum) bis zum tiefsten Invasionspunkt des Tumors gemessen.[3]

Weitere wichtige Faktoren für die Prognose sind Ulzeration und Mitoserate des Primarius. Epidemiologische Studien belegen, dass ulzerierte Tumoren eine höhere biologische Aggressivität besitzen als nicht ulzerierte. Je dicker ein Tumor ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Ulzeration entsteht. Gleichzeitig sinkt die Zehn-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit ulzerierter Tumoren beträchtlich.[20] Bei einer Tumordicke von über 4 mm sinkt die Zehn-Jahres-Überlebensrate von 55% auf 35% bei Vorliegen einer Ulzeration.[6] Eine Tumor-Mitoserate (TMR) von unter $1/\text{mm}^2$ wird als prognostisch günstig gewertet. Azzola et al. beschrieben in einer Studie eine deutliche höhere Überlebenszeit für Patienten, die eine TMR von $0/\text{mm}^2$ im Vergleich zu Patienten mit einer TMR von $\geq 1/\text{mm}^2$. [4] Ein zusätzlicher Prognosefaktor, der das Überleben positiv beeinflusst, ist die Früherkennung des Primärtumors. So konnten Breitbart et al. nachweisen, dass durch Screening-Programme zur Früherkennung des malignen Melanoms die Melanom-Letalität in den teilnehmenden Regionen gesenkt wurde.[18] Dies korreliert mit einer Abnahme der Tumordicke bei Erstdiagnose des MM. Garbe konnte beispielsweise zeigen, dass die mediane Tumordicke in den letzten Jahren von 1,5 mm auf 0,8 mm zurückgegangen ist.[35]

2.6.2. Status des Sentinel-Lymphknotens

Willi et al. beschreiben in ihrer Studie, dass neben der Tumordicke auch der histologische Status des Wächterlymphknotens (Sentinel-Lymphknoten) einen wichtigen unabhängigen Risikofaktor für das früh rezidivierende Melanom darstellt.[113] In einer Studie von Gershenwald et al. aus dem Jahr 1999, bei der sich 612 Patienten einer SLNB in Doppelmarkierung (radioaktiver Marker und intraoperativ injizierter Farbstoff) unterzogen hatten, belegen die Autoren, dass der Status des SLN noch vor der Primärtumordicke den wichtigsten prognostischen Faktor im Bezug auf das rezidivfreie Überleben darstellt.[42]

Unterschiede wurden auch in Hinsicht auf das rezidivfreie Überleben nachgewiesen. Beträgt das rezidivfreie Fünf-Jahres-Überleben nach SLNB 78,3%, sind es bei Patienten, die keine SLNB erhalten haben, 73,1% ($p=0,009$), so eine randomisierte Studie von Morton et al.[79] Van Akkooi et al. konnten 2008 in einer Studie nachweisen, dass auch die jeweilige Größe der Metastasierung innerhalb der SLN, gemessen nach den gängigen Rotterdam-Kriterien (<0,1mm; 0,1-1mm; >1mm) einen Einfluss auf das Überleben hat.

Bei Patienten mit einer Metastasierung von <0,1mm betrug die Fünf-Jahres-Überlebensrate 91%, bei Patienten mit einer Ausbreitung von >1mm nur noch 51% ($p<0,001$).[105]

2.6.3. Weitere prognostische Faktoren

Die Fünf-Jahres-Überlebensrate ist weiterhin abhängig vom Geschlecht des Patienten. Sie beträgt unabhängig von Tumorlokalisation und Tumordicke 93,5% bei den Frauen und 88,8% bei den Männern.[19]

Der histologische Subtyp beeinflusst die Prognose des MM ebenfalls deutlich. So wurde in Studien festgestellt, dass Patienten mit einem LMM oder einem SSM eine wesentlich bessere Fünf-Jahres-Überlebensrate haben als Patienten mit einem NMM oder ALM (Tabelle 3).[25]

Tabelle 3: Fünf-Jahres-Überlebensraten von Patienten mit histologischen Subtypen des MM

Klinisch-histologischer Subtyp	Fünf-Jahres-Überlebensrate
Superfiziell spreitende Melanom (SSM)	91,6%
Noduläre Melanom (NMM)	64,6%
Lentigo-maligna-Melanom (LMM)	93,2%
Akrolentiginöses Melanom (ALM)	66,4%

Eine prognostische Bedeutung wird ebenso der anatomischen Tumorlokalisation zugesprochen. MM im Bereich des Kopfes, des Halses und des Körperstammes haben im Vergleich zu Lokalisationen an den Extremitäten eine ungünstigere Prognose.[83]

Regelmäßige Nachsorgeuntersuchungen in festgelegten Zeitintervallen können ebenfalls Einfluss auf die Prognose des MM ausüben.

Etwa 10% der Patienten erleiden nach Feststellung des Primärtumors ein Rezidiv. Dieses tritt in 85% der Fälle innerhalb der ersten fünf Jahre nach Exzision des Primärtumors auf.

70% dieser Melanomrezidive erscheinen als Lymphknotenmetastasen regionaler Lymphknoten oder als Satelliten-Metastasen. Die Zehn-Jahres-Überlebensrate sinkt hierbei auf max. 40%.**[35]**

Die Prognose des MM ist somit stadienabhängig. Die auf Grundlage der Daten des AJCC analysierten Überlebensprognosen für das jeweilige Tumorstadium zeigt Tabelle 4.**[6]**

Tabelle 4: Fünf- und Zehn-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit des AJCC-Stadiums **[6]**

AJCC-Stadium	Fünf-Jahres-Überlebensrate %	Zehn-Jahres-Überlebensrate %
IA	97	95
IB	92	86
IIA	81	67
IIB	70	57
IIC	53	40
IIIA	78	68
IIIB	59	43
IIIC	40	24
IV	15-30	10-25

Kontinuierliche Verlaufskontrollen in definierten Abständen können die Prognose des MM beeinflussen. Leiter et al. beschreiben beispielsweise, dass die frühzeitige Erkennung eines Tumorrezidivs gegenüber der Erkennung in einem fortgeschritteneren (symptomatischen) Stadium die Überlebenszeit signifikant verlängert.**[69]**

2.7. Diagnostik des malignen Melanoms

Die Grundlage der Diagnostik bildet die klinische dermatologische Untersuchung unter Zuhilfenahme eines Dermatoskops zur vergrößerten Darstellung und Beurteilung der Pigmentstrukturen melanozytärer Hautveränderungen.

2.7.1. Klinische Untersuchung

Die klinische Beurteilung der Dignität pigmentierter Hautläsionen folgt der etablierten ABCD-Regel.[31]

A kennzeichnet hierbei die Asymmetrie, B beschreibt die unregelmäßige Begrenzung, C die heterogene Farbgebung (≥ 2 unterschiedliche Farbtöne: schwarz, braun, rot, grau, blau) und D den Durchmesser (kritischer Wert ist eine Größe von $\geq 6\text{mm}$) der zu beurteilenden Pigmentläsion. Die aktuellen Leitlinien zur Diagnostik des MM empfehlen den Einsatz eines Dermatoskops durch geschulte Fachärzte bei der Diagnose des MM, da dies die Genauigkeit erhöht.[70]

2.7.2. Diagnostik mittels bildgebender Verfahren

Im Rahmen des Primär-Stagings und der Nachsorge kommt der Sonographie von Haut, Subkutis und regionären Lymphknoten die größte Bedeutung der bildgebenden Verfahren zu.[104]

Mit Einführung hochfrequenter Ultraschallsysteme (20- bis 100-MHz) wurde das Verfahren bereits in den 1970er Jahren in die Dermatologie eingeführt.[22] In der präoperativen Phase kann der Ultraschall zur Messung der Tumordicke des Melanoms und zur Detektion etwaiger Satellitenmetastasen verwendet werden.[52][82]

Ab dem Stadium IB bzw. bei vorliegender Indikation für eine SLNB wird die Sonographie mit Frequenzen zwischen 7,5 und 15 MHz zur Darstellung der regionären peripheren Lymphknoten eingesetzt.[15][92][70][104]

Zum Ausschluss von Fernmetastasen werden gemäß den aktuellen Leitlinien weitere bildgebende Verfahren eingesetzt. Hierzu zählen neben der Computertomographie (CT) auch die Magnetresonanztomographie (MRT) des Kopfes und Positronen-emissionstomographie (PET, PET-CT).

2.7.3. Schildwächter-Lymphknoten-Biopsie

Als Schildwächter-Lymphknoten (Sentinel-Lymphknoten/SLN) wird derjenige Lymphknoten bezeichnet, in den über afferente Lymphgefäße die Lymphe der Primärtumorregion als erstes drainiert. Es ist somit auch der Lymphknoten, der mit größter Wahrscheinlichkeit als erster Lymphknoten im regionären Lymphabflussgebiet Melanometastasen beherbergt.

2.7.3.1. Historie der SLNB

Die Existenz dieser Wächterlymphknoten wurde erstmals 1960 von Ernest A. Gould im Rahmen seiner Studie zu Karzinomen der Ohrspeicheldrüse beschrieben.

Er fand heraus, dass sich zwischen dem Tumor der Speicheldrüse und den regionalen Lymphknoten des Halses Lymphknoten befinden, die er als Wächterlymphknoten bezeichnete. Eine Neck-Dissection (eine radikale Operation, bei der alle am Hals befindlichen Lymphknoten entfernt werden) machte er davon abhängig, ob diese Wächterlymphknoten von Tumorzellen aus der Parotis befallen waren.[46]

1977 konnte Cabanas mittels Lymphangiogrammen das Vorhandensein von SLN bei Patienten mit Peniskarzinomen nachweisen.[21]

Von da an spielte die SLN-Biopsie (SLNB) in immer mehr medizinischen Fachrichtungen eine herausragende Rolle, um eine regionäre Metastasierung im primären Staging feststellen zu können, so wie beispielsweise in der Gynäkologie im Rahmen der Diagnostik und Behandlung des Mamma-Karzinoms.

In der Dermatologie gewann die Wächterlymphknotenbiopsie durch Untersuchungen von Morton et al. zu Beginn der 1990er Jahre an Bedeutung. Durch Verwendung eines kolloiden Farbstoffes stellte er die Drainagewege der Lymphe der Primärtumorregion des malignen Melanoms bis hin zu den Wächterlymphknoten dar und etablierte so ein gezieltes und für den Patienten weniger invasives Verfahren im Vergleich zu der in diesem Zeitraum noch als Standard ausgeübten elektiven Lymphknotendisektion.[75]

Diese Methode brachte für die betroffenen Patienten den entscheidenden Vorteil, dass sie bei negativer SLNB keine komplette Lymphknotendisektion benötigten und ihnen somit postoperative Komplikationen wie Ödembildung, Nervenschmerzen etc. erspart blieben.[75]

2.7.3.2. Durchführung der SLNB

1993 wurde die von Morton beschriebene Technik der Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB) durch Alex et al. weiterentwickelt, indem sie Patienten präoperativ ^{99m}Tc-sulfur-Kolloide applizierten.

Das Kolloid wurde in dem SLN angereichert und konnte mittels stiftförmiger Gamma-Sonde intraoperativ detektiert werden. Dies hatte den Vorteil, dass die SLN bereits so genau wie möglich lokalisiert und somit unnötige Inzisionen vermieden werden konnten. Gegenüber der alleinigen Markierung mit Farbstoffen nahmen die Detektionsraten durch die Doppelmarkierung darüber hinaus deutlich zu. Kapteijn et al. beschrieben, dass durch die kombinierte Anwendung von radioaktiven Markern und intraoperativ appliziertem Farbstoff die Detektionsrate 99,5% betrug, wohingegen sie bei der alleinigen Farbstoff-Anwendung bei lediglich 84% lag.[59]

Zusätzlich zur Lymphszintigraphie mit Gamma-Sondendetektion wurde intraoperativ weiterhin der Patentblaufarbstoff injiziert. Dadurch war eine bessere Darstellung der SLN im Operations-Situs möglich.[2]

Da die SLNB von der Lymphabstromszintigraphie bis zur histologischen Auswertung einen komplexen Prozess darstellt, sollte diese nur an entsprechend spezialisierten Zentren erfolgen.[55] Die Lernkurve des Operateurs für eine qualitativ hochwertige Operationstechnik umfasst laut Ross et al. eine Mindestanzahl von 30 und mehr Operationen an.[89]

2.7.3.3. Wertigkeit der SLNB

Mit der Überarbeitung der Tumorklassifikation durch das AJCC 2001 wurde die SLN-Biopsie als Standardverfahren zur Diagnostik von Melanomen mit einer Tumordicke ab 1 mm etabliert. In besonderen Fällen (Clark-Level IV/V und/oder bei Vorliegen von Ulzerationen, einem Alter unter 40 Jahren, einem Mitoseindex ≥ 1) wird empfohlen eine SLNB bereits ab einer Tumordicke von 0,75 mm durchzuführen, da ein erhöhtes Risiko für eine Mikrometastasierung im SLN vorliegt.[67][63][110][64]

Die SLNB ist somit letztlich eine diagnostische Methode zur Verbesserung des pathologischen Stagings. Da bislang nicht gezeigt werden konnte, dass durch die SLNB im Gegensatz zum rezidivfreien Überleben (vgl. 2.6.2.) das Gesamtüberleben der betroffenen Patienten verlängert wird, wird die Wertigkeit dieser Methode in der Literatur teilweise kontrovers diskutiert.[74][100][99]

Angesichts des möglicherweise fehlenden Einflusses auf eine Verbesserung der Überlebenszeit werden auch die potentiellen Nebenwirkungen der SLNB kritisch betrachtet. Jedoch unabhängig von den in der Literatur publizierten Nebenwirkungen, die durch die Anwendung von PB entstehen können, ist die SLNB mit einer Komplikationsrate von unter 5% ein relativ sicheres Verfahren zur Diagnostik eines potentiell metastasierenden Tumors.[65]

Häufige unerwünschte Nebenreaktionen sind in absteigender Reihenfolge Serome, Hämatome, Sensibilitätsstörungen (Inzisionsnarben), Narbenbildungen und Lymphabflussstörungen. In seltenen Fällen kann es unter Verwendung von Patentblau zu permanenten Diskolorationen (siehe Abbildung 1) oder auch zu anaphylaktischen Reaktionen kommen.[53]

Abbildung 1: Permanente Diskoloration nach PB-Injektion[116]



Auf der anderen Seite bedeutet die Kenntnis des Sentinel-Status für den Patienten eine präzisere prognostische Einordnung seiner Melanomerkrankung und eröffnet Möglichkeiten, eine adjuvante Therapie gezielter einzusetzen. Dies ist v. a. mit der derzeitigen Etablierung wirksamer immunmodulatorischer und pathogenese-orientierter Melanom-Therapien von großer Wichtigkeit.

2.7.4. Weitere diagnostische Verfahren

Das von Melanomzellen produzierte und exprimierte S100, findet standardmäßig Verwendung in der immunhistochemischen Untersuchung und als Tumormarker im Serum von Melanompatienten.[54] Ein Serumanstieg des S100-Proteins korreliert mit der Überlebensrate, dient der Früherkennung von Metastasen und ermöglicht es, den Erfolg einer systemischen Chemotherapie einzuordnen.[58][93][3]

2.8. Therapie des malignen Melanoms

Die Therapie des Melanompatienten kann unterteilt werden in die operative Versorgung des Primärtumors, die adjuvante Therapie von Hochrisiko-Tumoren, die Metastasen Chirurgie, sowie die palliative Therapie inoperabler Fernmetastasen.

Abhängig sind alle Therapieansätze vom jeweils vorliegenden Tumorstadium und im inoperablen Stadium III und IV vom Ausbreitungsmuster und dem BRAF-Genotyp des malignen Melanoms.

2.8.1. Operation des Primärtumors

Die Exzision des Primärtumors mit dem Ziel der R0-Resektion und einem Sicherheitsabstand von 0,5 cm (In-situ-Melanom), 1 cm (Tumordicke nach Breslow bis 2,0 mm) bzw. 2 cm (Tumordicke > 2 mm) ist die Therapie der Wahl.

In der Regel werden diese Operationen in lokaler Anästhesie und anschließend Defektverschluss durchgeführt.[37][49]

Für den Fall, dass der Primärtumor einer chirurgischen Entfernung nicht vollständig zugänglich sein sollte oder sich eine inoperable R1-/R2-Situation ergibt, ist eine palliative Therapie, z.B. mittels Radiotherapie, hyperthermer Extremitätenperfusion oder Elektrochemotherapie, indiziert.

So gelten Lentigo-maligna-Melanome als durchaus strahlensensibel und eine lokale Tumorkontrolle ist durch eine primäre Radiotherapie zu erreichen.

2.8.2. Metastasen Chirurgie und adjuvante Therapie

Über die operative Entfernung des Primärtumors in den Stadien I und II hinaus, wird im Stadium III der Erkrankung, z.B. bei positivem SLN-Status im Anschluss eine elektive regionäre Lymphknotendissektion empfohlen.[37][77]

Im Stadium III und IV kann durch die vollständige Resektion vorhandener operabler Metastasen – mit dem Ziel eine „tumorfreie“ Situation zu erreichen – die Überlebenszeit bei Erhalt der Lebensqualität und Vermeidung metastasenbedingter Komorbidität verlängert werden.[114]

Bei Hochrisiko-Primärmelanomen und Patienten im tumorfremen Stadium III kann eine adjuvante Therapie mit Interferon alpha mit dem Ziel der Verlängerung des rezidivfreien Überlebens erwogen werden.

2.8.3. Palliative Therapie

Die palliative Therapie im Stadium der inoperablen regionären oder Fernmetastasierung basierte bis vor wenigen Jahren auf der Chemo- bzw. Chemoimmunotherapie.

Zu den häufig eingesetzten Substanzen zählten neben Dacarbacin (DTIC) als Standard-Zytostatikum u. a. Interferone, Cisplatin, Vindesin, Temozolomide und Fotemustin.

Diese haben je nach Regime unterschiedliche Auswirkungen auf das Tumoransprechen und das rezidivfreie Überleben, allerdings kaum einen Einfluss auf das Gesamtüberleben.[47][80][102][61][50]

Eine weitere Säule der palliativen Versorgung von Melanompatienten stellt die Strahlentherapie z.B. bei cerebralen oder ossären Metastasen, sowie im Rahmen eines Debulking und der Schmerztherapie dar.

Als neuere Therapieoptionen sind einerseits Signaltransduktions-Inhibitoren wie beispielsweise BRAF-, MEK-, c-KIT-Inhibitoren verfügbar. Diese setzen jedoch einen gezielten Einsatz bei Vorhandensein spezifischer Mutationen voraus (BRAF, c-KIT).

Die zweite Säule innovativer Therapieansätze mit nachgewiesen besserer Wirksamkeit auch auf das Gesamtüberleben der betroffenen Patienten stellen Substanzen dar, die die Immuntoleranz gegenüber den Tumorzellen durchbrechen, wie z.B. CTLA-4- oder PD-1-Antikörper (Ipilimumab, Pembrolizumab).

2.9. Tumornachsorge

Die Vorgehensweise und die Häufigkeit der Untersuchungen innerhalb der Nachsorge gestalten sich in Abhängigkeit vom Tumorstadium und sind in der aktuellen Leitlinie festgelegt.[70] Die Ziele der über einen Zeitraum von zehn Jahren durchzuführenden Nachsorgeuntersuchungen sind folgende [37]:

- Feststellung der Tumorfreiheit und/oder Früherkennung einer Progression
- Überwachung des Pigmentsystems zur Früherkennung von Melanomvorläufern und/oder Zweitmelanomen
- psychosoziale Betreuung
- Dokumentation der Krankheitsverläufe
- Durchführung und Überwachung einer adjuvanten Therapie
- Anleitung zur gewissenhaften Selbstuntersuchung

2.10. Studienziele

Der technische Prozess der SLNB ist noch nicht abgeschlossen. Es ist umstritten ob die SLNB mit einer Doppelmarkierung mit radioaktivem Tracer und Vitalfarbstoff erfolgen muss, oder ob die alleinige Lymphszintigraphie mit intraoperativer Gamma-Sonden-Detektion ausreichend ist. Diese Frage ist deswegen von Bedeutung, da mit der Anwendung von Farbstoffen Risiken für den Patienten verbunden sind. So sind u.a. potentiell lebensbedrohliche anaphylaktische Reaktionen auf Patentblau beschrieben worden, die mit einer Häufigkeit von 0-1% zu erwarten sind.[10][64]

Im Gegensatz zur SLNB beim Mamma-Karzinom liegen für das MM zu dieser Fragestellung noch keine vergleichenden Studien vor.

Das Hauptaugenmerk der vorliegenden Arbeit richtet sich nun auf die Frage, ob die zusätzliche Anwendung des Farbstoffes Patentblau neben der Markierung mit radioaktivem Kolloid für den Patienten nutzbringend ist. Es soll primär analysiert werden, ob es Unterschiede im Hinblick auf die Detektionsrate der Sentinel-Lymphknoten gibt und ob die Doppelmarkierung einen Einfluss auf die Rate histologisch positiver Sentinel-Lymphknoten ausübt.

Darüber hinaus erfolgt die Auswertung, ob histologisch positive Lymphknoten vorhanden waren, die durch die Färbung detektiert wurden, der Detektion durch die Gamma-Sonde jedoch entgangen waren. Ferner wird ausgewertet, ob eine mögliche höhere Rate an falsch-negativen SLN-Bassins — d.h. Bassins aus denen zunächst histologisch negative SLN extirpiert wurden und in denen sich im weiteren Verlauf der Nachbeobachtungszeit eine Metastasierung zeigte — in der Gruppe ohne PB im Vergleich zur Gruppe mit PB vorliegt.

Sekundär wird analysiert, ob eines der beiden Verfahren bezogen auf das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben dem anderen überlegen ist und ob und ggf. wie häufig spezifische Nebenwirkungen (Allergien, Anaphylaxien, Diskolorationen) des Vitalfarbstoffes, wie sie eingangs bereits beschrieben wurden, auftreten.

3. PATIENTEN UND METHODEN

3.1. Auswahl der Stichprobe

Ausgehend vom Zeitpunkt 31.12.2010 wurden aus den vorherigen drei Jahren (Zeitraum 2008 bis 2010) 200 Patienten, die sich einer Sentinel-Lymphknoten-Operation unterzogen haben und den Selektionskriterien (siehe 7.3. Stammbblatt zur Datenerfassung) entsprachen, für diese retrospektive Studie identifiziert.

Innerhalb dieser Patientenkohorte wurden zwei Gruppen à 100 Patienten definiert:

Gruppe A: Radiopharmakon (^{99m}Tc -Nanocoll) und Patentblau V; Gruppe B: nur Radiopharmakon (^{99m}Tc -Nanocoll). Die durchgeführte OP-Technik unter Verwendung bzw. Verzicht des Farbstoffes fand in o. g. Zeitraum in zeitlichen Phasen statt und folgte dem Zufälligkeitsprinzip.

Die Identifikation der Patienten geschah mit Hilfe der Operationsberichte. Anhand dieser Berichte konnten sowohl die Patientendaten, die Tumorcharakteristika als auch die relevanten Operationsparameter (Patentblau V angewendet: ja/nein; Menge des verwendeten Patentblaus; Werte der gemessenen Radioaktivitäten in Counts per second (Cps) an dem Ort des Primärtumors und der Lymphknotenstationen, Anzahl und anatomische Lage der Sentinel-Lymphknoten; semiquantitative Intensität der Anfärbung der Lymphknoten mit Patentblau) ermittelt werden.

Sämtliche Operationen wurden im oben genannten Zeitraum von Herrn Dr. med. Knuth Rass (Oberarzt der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie) entweder persönlich oder unter dessen Supervision in Tumeszenzlokanästhesie durchgeführt.

3.1.1. Selektionskriterien

Die definierten Selektionskriterien (Tabelle 5) sollten einerseits die Indikationsstellung der SLN-Biopsie in der Routinediagnostik abbilden. Andererseits sollten Umstände, die zu Zweifeln in der Befundinterpretation (beispielsweise diffuser Lymphabstrom von Melanomen im Kopf-/Hals- Bereich) oder zu tatsächlichen Änderungen im Lymphabfluss (z. B. vorherige plastische Verschiebung der Primärtumorregion) führen konnten, ausgeschlossen werden. Letztlich sollten eine gewisse Altersgrenze und der Ausschluss sich auf die Prognose ungünstig auswirkender Faktoren im Rahmen der Primärdiagnostik dazu beitragen, dass eine Vergleichbarkeit der Gruppen und eine Nachbeobachtung des Patientenkollektives ermöglicht werden konnte.

Somit wurden maligne Melanome mit einer Tumordicke von größer oder gleich 0,75 mm eingeschlossen. Patienten mit einer geringeren Tumordicke konnten darüber hinaus in die Studie aufgenommen werden, wenn gleichzeitig weitere prognostische Risikofaktoren, wie Ulzeration und/oder Mitoseindex $\geq 1/\text{mm}^2$ vorlagen.

Primärtumorlokalisationen im Kopf-/ Halsbereich, Uvea- und Schleimhautmelanome waren ebenso Ausschlusskriterien, wie eine vorausgegangene Primärexzision mit Verschiebelappenplastik, ein Lebensalter von über 79 Jahren, Satelliten- und/oder Intransit-Filiae bei Primärdiagnose, Lymphknoten-Makrofiliae und Fernmetastasen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose.

Tabelle 5: Selektionskriterien bei der Auswahl der Patienten

Ausschlusskriterien	
Tumordicke	<0,75 mm (außer bei Vorlage von prognostischen Faktoren wie Ulzeration und/oder Mitoseindex $\geq 1/\text{mm}^2$)
Primärtumor-Lokalisation	Kopf-/Halsbereich, Schleimhäute und Uvea
Art der Primärtumor-Exzision	Primärexzision mit Verschiebelappenplastik
Metastasen bei Diagnosestellung	Satelliten- und/oder Intransit-Filiae, Lymphknoten-Makrofiliae und Fernmetastasen
Alter	>79 Jahre

3.2. Operationstechnik

3.2.1. Lymphabstromszintigraphie

Am Vortag der geplanten SLN-Operation applizierte man allen Patienten ca. 24 Stunden präoperativ im Bereich des Primärtumors peritumoral, bzw. bei bereits voroperierten Patienten um die Narbenregion in einem Abstand von 0,5 – 1 cm streng intrakutan 0,05 – 0,2 ml des isotop-markierten Radiopharmakons Technetium (^{99m}Tc-Nanocoll, Gesamtaktivität von 40-100 MBq) pro Injektion. Zur Sicherstellung eines ausreichenden Targetsignals am Operationstag sind laut Verfahrensweisung zur SLN-Diagnostik mindestens vier Injektionen notwendig, sodass sich eine Mindest-Applikationsmenge von 0,2 ml ergab.[107]

Bei schmerzempfindlichen Injektionsstellen wie z. B. der Hand- und Fußregion, wurde die Stelle vor der Applikation mittels Lidocain (subcutan; s.c.) und Procain-Creme anästhesiert. Der Verfahrensablauf der Injektion ist übersichtlich in Tabelle 6 dargestellt.

Die Applikationsstelle wurde von den Nuklearmedizinern mittels eines Pflasters verschlossen. Der erste Ganzkörperscan erfolgte zehn Minuten post injectionem (p. i.) anhand einer Zweikopfkamera und einem LEHR-Kollimator (Low Energy High Resolution).[112] Nach weiteren zwei bis drei Stunden p. i. erfolgte ein zweiter Ganzkörperscan. Die hierbei erstellten Befunde (Lymphknotenzintigramm) wurden dem Operateur über die klinikinterne SAP-Software und in Papierform zur Verfügung gestellt. Außerdem markierten die Nuklearmediziner die Lage der Lymphknoten mit einem Hautmarkierungsstift, ggf. axillär in zwei Ebenen (sagittale und transversale Achse).

Anhand der Lymphabstrom-Befunde war es dem Operateur möglich das Operationsgebiet für die SLNB einzugrenzen.

Tabelle 6: Charakteristika der Lymphabstromszintigraphie / Instillation des Radiopharmakons

Art der Injektion	Intradermal, peritumoral bzw. nach vorangegangener OP um die Narbe
Injektionsanzahl	≥4
Volumen pro Injektion	0,05-0,2 ml
Gesamtaktivität (MBq)	40-100
evtl. Lokalanästhesie	Empfindliche Stellen wie Kopf, Fuß, etc. mit Lidocain (s.c.) und Procain-Creme

3.2.2. Sentinel-Lymphknotenbiopsie

Präoperativ erfolgte bei jedem Patienten eine sonographische Darstellung (Sonosite Titan, 7,5 MHz Sonde, Sonosite, Erlangen) der Lymphknoten im markierten Gebiet, um die topographische Lage des SLN besser zu charakterisieren und um präoperativ eine vorliegende Makrometastasierung auszuschließen.

Nach der sonographischen Lagebestimmung der Lymphknoten erfolgte die Messung der „hot spots“ mittels einer Gamma-Sonde (Szinti-Probe MR-100, S.P. Turanese, Carsoli, Italian/bzw. Crystal Probe S604, Crystal Photonics GmbH, Berlin, Deutschland) bereits im OP-Saal. Die Markierungen wurden je nach erforderlichem Zugang, z. B. axillär von lateral, modifiziert bzw. präzisiert.

Im Anschluss wurde das Operationsgebiet – Primärtumorregion bei erforderlicher Nachexzision und das Sentinel-Gebiet mittels Tumescenz-Lokalanästhesie (0,1% Ropivacain, bzw. 0,11% Ropivacain/Lidocain-Tumescenz-Lösung) betäubt.

Abbildung 2: Injektion des Lokal-anästhetikum in peritumoröses Umfeld



Abbildung 3: Injektion von PB



Abbildung 4: Farbstoff im SLN-Gebiet



Abbildung 5: SLN nach PB-Färbung



Zusätzlich zur Anästhesie wurde den Patienten der Gruppe A streng intrakutan 0,8 ml bis max. 2 ml des Patentblau V (Guerbet® AG, 2,5%ige wässrige Injektionslösung mit 50 mg Patentblau V (E131) als Natriumsalz in einer 2 ml Brechampulle) in einer Entfernung von 0,5-1 cm um die Primariusregion bzw. um die Primärexzisionsnarbe injiziert.

Da die Instillation des Farbstoffs extrem schmerzhaft ist, erfolgte diese weit überwiegend (bei 98/100 Patienten) nach Durchführung der Lokalanästhesie. (siehe Abbildung zwei bis fünf).

Unter wiederholter Messung mittels Gamma-Kamera wurden die SLN exstirpiert. Perinodale Gefäße wurden mit Vicryl 3-0 Fäden (FA. Ethicon Inc., Johnson & Johnson MEIDCAL GmbH, Norderstedt, Deutschland) ligiert.

Im Rahmen der Messung der γ -Strahlung wurden die maximalen Zerfallsraten in Cps präoperativ, intraoperativ und auch ex vivo dokumentiert. Nach der SLN – Entnahme wurde am OP-Situs abermals die Hintergrundstrahlung (sog. „Background“) gemessen und ggf. weitere Lymphknoten, bei denen $\geq 10\%$ des Strahlenmaximums gemessen wurde, entfernt. Zusätzlich zur Messung der Hintergrundstrahlung wurde der Situs in Gruppe A auf weitere blau gefärbte Lymphknoten gemustert.

Abschließend erfolgte nach Exstirpation des oder der SLN ein mehrschichtiger Wundverschluss der Operationswunde mit Vicryl 3-0 subkutan und Monocryl 4-0 kutan adaptierend (Axilla- und Supraclavicularregion) bzw. PDS 4-0 als epikutane Rückstichnaht nach Donati (Inguinal- und Poplitealregion).

3.3. Histologische Aufarbeitung der Wächterlymphknoten:

Die histopathologische und immunhistochemische Aufarbeitung erfolgte im Einklang mit der Arbeit um die Studiengruppe von Starz et al. aus dem Jahr 2001. Der entnommene Sentinel-Lymphknoten wurde zunächst in einer 4%igen Formalin-Lösung fixiert. Anschließend erfolgte die Lammelierung in 1 mm breite Schnitte parallel zur Längsebene des Lymphknotens. Von jeder Schnittebene wurden drei Paraffinschnitte gefertigt, die mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt sowie mit S100 [Bestellnummer: Z0311; DAKO; Konz.: 1:1000] und HMB45-Antikörpern [Bestellnummer: M0934; DAKO; Konz.: 1:100] immunhistochemisch aufgearbeitet wurden.[97]

Zusätzlich erfolgte eine immunhistologische Aufarbeitung des Schnittes mit dem Melanomzellmarker PAN Mel [Bestellnummer: Mob428; biosystems; Konz.: 1:50].

Die Metastaseneindringtiefe wurde vom Kapselrand des Lymphknotens bis zur maximalen Eindringtiefe angegeben [Vorgehensweise gemäß Studienprotokoll „Elektive Lymphadenektomie versus Beobachtung bei positivem Wächter-Lymphknoten“ der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie und der Deutschen Gesellschaft für Dermatochirurgie, Version 15; 24.01.2008].

Als positiv wurden Lymphknoten gewertet, welche HMB45-positive Einzelzellen sowie umschriebene Zellhaufen von S100-positiven Zellen enthielten.

Bei positivem Sentinel-Lymphknoten-Befund und gleichzeitiger Aufnahme in die im vorherigen Abschnitt erwähnte SLN-Studie wurden die angefertigten Schnitte zudem an das Berliner Referenz- und Konsultationszentrum für Lymphom- und Hämatopathologie (Prof. Dr. Dr. h.c. Stein, Prof. Dr. H. Dürkop, Prof. Dr. H.-D. Foss) gesendet.

3.4. Datenerfassung

In dieser retrospektiven Studie wurden Alter bei SLNB, Geschlecht und Name des Patienten registriert. Der Patientennamen wurde ausschließlich für die Erfassung von Daten aus der Tumornachsorge genutzt (s. u.).

Weiterhin wurden tumorspezifische Daten wie die Primärtumorlokalisation, Tumordicke nach Breslow (in mm), histologischer Typ des malignen Melanoms [superfiziell spreitendes malignes Melanom (SSM); sekundär noduläres SSM; noduläres malignes Melanom (NMM); akrolentiginöses malignes Melanom (ALM); Lentigo maligna Melanom (LMM); nicht klassifizierbares malignes Melanom (UCM)], Clark – Level (II – V), Vorliegen einer Ulzeration des Primarius, Satellitenfiliae im Nachexzidat, Mitoseindex (soweit klassifiziert), das Stadium auf Basis der AJCC-Klassifikation, die pathologische TNM-Klassifikation, die Anzahl der radioaktiv markierten und exstirpierten SLN und nachgeschalteter Lymphknoten (NLN), sowie deren histologisches Ergebnis (positiv oder negativ, bzw. Lymphknoten enthielt Tumorzellen oder Lymphknoten enthielt keine Tumorzellen) erfasst. [6]

Die gemessene Radioaktivität der SLN/ Non-Sentinel-Lymphnodes (NLN) (präoperativ, intraoperativ und ex-vivo) wurde in die Datenerfassung aufgenommen.

Zum Vergleich, ob alle von der Nuklearmedizin markierten Lymphknoten exstirpiert wurden, wurde auch die von der Nuklearmedizin übermittelte Anzahl an SLN/NLN in der vorliegenden Datenerfassung registriert.

Bei den Patienten der Gruppe A wurde auch die Intensität der Patentblau V-Färbung der entnommenen Lymphknoten (LK) semiquantitativ dokumentiert (keine Färbung, schwache Färbung oder starke Färbung).

Zur Analyse des rezidivfreien Überlebens, des fernmetastasenfreien und des Gesamtüberlebens der sekundären Studienvariablen wurde neben einer etwaigen Lymphknotendissektion (Vorhandensein weiterer Metastasen im Dissektat), das Auftreten von Rezidiven samt Datum der Diagnosestellung und Rezidivart, als auch das Todesdatum und Todesursache bei letalem Ausgang mit in die Erfassung aufgenommen (vgl. „Anleitung zur Datenerfassung“ im Anhang).

3.5. Statistische Analyse

Die erhobenen Daten wurden in eine Excel-Tabelle übertragen. Die Daten wurden durch zwei unabhängige Untersucher (Andrej Matthies, Dr. med. Knuth Rass) auf Vollständigkeit und Korrektheit hin überprüft.

Zur Anwendung kamen die gängigen deskriptiven Statistiken (Mittelwert, Median, Streuung, Standardabweichung bei skalierten Variablen, Anzahl und prozentuale Anteile von nominalen bzw. ordinalen Variablen).

Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels des exakten zweiseitigen Chi-Quadrat-Tests (nominale bzw. ordinale Variablen) bzw. mittels des Mann-Whitney-U-Tests (skalierte Variablen) analysiert.

Die Analyse des rezidiv- und fernmetastasenfreien Überlebens sowie des Gesamtüberlebens erfolgte mittels Kaplan-Meier-Kurven. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels Log-Rank-Test auf Signifikanz geprüft.

Ein p-Wert $<0,05$ wurde als statistisch signifikant bewertet. Die statistische Auswertung der Daten wurde mit dem Statistikprogramm PASW Statistics 18 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Charakterisierung der Stichprobe, ausgeschlossene Patienten

Im Zeitraum 01.01.2008 bis 31.12.2010 wurden anhand der vorliegenden Operationsberichte insgesamt 246 Sentinel-Lymphknotenoperationen durchgeführt. Gemäß definierter Selektionskriterien (vgl. 7.3. Stammbblatt zur Datenerfassung) wurden insgesamt 46 Patienten ausgeschlossen, hierunter sieben Patienten mit anderen Tumorentitäten (n=6 Merkelzellkarzinome; n=1 Klarzellsarkom). Somit wurden 39/239 Melanompatienten mit durchgeführter Sentinel-Lymphknotenbiopsie im Beobachtungszeitraum exkludiert ($\approx 16,3\%$). Die Gründe hierfür waren in absteigender Häufigkeit:

- n=7 Fehlendes oder unvollständig ausgefülltes SLNB-Protokoll
- n=7 Primärtumor in der Kopf-/Hals-Region
- n=7 Rezidiv in loco, Satelliten- oder Intransit-Metastasen bei Diagnosestellung
- n=5 Regionäre LK-Makrometastase
- n=5 Alter > 79 Jahren
- n=5 Tumordicke nach Breslow < 0,75 mm ohne weitere Risikofaktoren
- n=2 Unsicherheit bei Einordnung des Primärtumors als solcher, DD Melanommetastase bei unbekanntem Primarius
- n=1 Vermutlich intrathorakale Lage des SLN (operativ nicht erreichbar)

Die verbliebenen 200 Patienten verteilten sich 1:1 auf die definierten Gruppen (vgl. 4.2.1 und Tabelle 7).

Tabelle 7: Übersicht über Operationen im Beobachtungszeitraum

Operationszeitraum	Patienten (n) in Gruppe A (^{99m} Tc-Nanocoll + Patentblau V)	Patienten (n) in Gruppe B (^{99m} Tc-Nanocoll)
Jahr 2008	4	61
Jahr 2009	58	8
Jahr 2010	38	31

4.2. Demographische und Tumor-Charakteristika der Stichprobe

4.2.1. Größe der Stichprobe, Patientenalter und Geschlecht

Die Stichprobe umfasst insgesamt 200 Patienten, die in zwei gleich große Gruppen à 100 Patienten unterteilt wurde. Bei den Patienten der Gruppe A kam im Rahmen der SLNB eine Doppelmarkierung mit dem isoton-markierten Radiopharmakon Technetium (^{99m}Tc -Nanocoll) und dem Farbstoff PB zum Einsatz. Die Patienten der Gruppe B unterzogen sich der SLNB mit einfacher Markierung mit ^{99m}Tc -Nanocoll ohne PB.

Das Durchschnittsalter der Patienten in Gruppe A betrug $56,1 \pm 14,8$ Jahre (Bereich: 21-78 Jahre), in Gruppe B $55,2 \pm 14,0$ Jahre (Bereich 19-78 Jahre). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,582$).

Allerdings konnte ein signifikanter geschlechtsspezifischer Altersunterschied beobachtet werden: Die Frauen der gesamten Stichprobe waren durchschnittlich 4,7 Jahre jünger als die Männer ($p=0,024$). Das Durchschnittsalter der Frauen betrug hierbei in Gruppe A 53,3 Jahre, in Gruppe B 53,2 Jahre ($p=0,874$). Die Männer der Gruppe A waren im Durchschnitt 58,9 Jahre alt, in Gruppe B 57,0 Jahre ($p=0,297$). Die geschlechtsspezifische Altersverteilung der Stichprobe im Detail zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8: Geschlechtsspezifische Altersverteilung

Geschlecht	Gruppe A (^{99m}Tc + PB)	Gruppe B (^{99m}Tc -PB)	Gesamtkollektiv
Männer			
Alter (J), Mittelwert \pm SD	$58,9 \pm 14,7$	$57,0 \pm 12,6$	$57,9 \pm 13,6$
[Bereich]	[22-78]	[20-76]	[20-78]
Frauen			
Alter (J), Mittelwert \pm SD	$53,3 \pm 14,5$	$53,2 \pm 15,2$	$53,2 \pm 14,8$
[Bereich]	[21-75]	[19-78]	[19-78]
p-Wert	0,047	0,219	0,024

Die Geschlechtsverteilung der beiden Gruppen gestaltete sich ausgewogen. Insgesamt besteht die Stichprobe aus 103 Männern und 97 Frauen: In Gruppe A kamen auf 51 Männer 49 Frauen und in Gruppe B auf 52 Männer 48 Frauen ($p=1,000$).

Zusammenfassend sind bezüglich der demographischen Patientendaten im Vergleich beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

4.2.2. Tumor-Parameter

4.2.2.1. Melanom-Typ

Die histologischen Subtypen der einzelnen Melanome verteilen sich im Gesamtkollektiv der 200 Patienten wie folgt:

Häufigster Tumortyp war das superfiziell spreitende Melanom (SSM) mit n=88 (44% der Patienten), wovon n=17 vom sekundär nodulären Typ waren, gefolgt vom nodulären Melanom (NMM) mit n=86 (43%). Deutlich seltener waren das nichtklassifizierbare Melanom (UCM) bei n=13 (6,5%), das akrolentiginöse Melanom (ALM) bei n=11 (5,5%) und das Lentigo-maligna-Melanom bei n=2 (1%) Patienten.

Im Vergleich der Gruppen lagen geringfügige Unterschiede in der Verteilung der Tumortypen vor, die jedoch nicht signifikant waren ($p=0,686$). In Gruppe A war das NMM mit 45% am häufigsten, gefolgt vom SSM mit 41%, in Gruppe B war das SSM mit 47% häufiger als das NM mit 41%. Die Verteilung der Tumortypen im Detail zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9: Verteilung histologischer Melanomtypen

Histologische Subtypen	SSM	sek. noduläres SSM	NMM	UCM	ALM	LMM
Gruppe A, n (=%)	33	8	45	9	4	1
Gruppe B, n (=%)	38	9	41	4	7	1

4.2.2.2. Tumordicke (Breslow), Invasionslevel nach Clark u. Primariusulzeration

Weitere prognostisch relevante Tumorparameter sind die Tumordicke nach Breslow, die Invasionstiefe nach Clark, die in der aktuellen TNM-Klassifikation nach AJCC 2009 jedoch keine Berücksichtigung mehr findet, sowie das Vorhandensein einer Ulzeration des Primärtumors.

Die durchschnittliche Tumordicke betrug in der gesamten Studienpopulation 2,41 mm, wobei sie in Gruppe A mit 2,53 mm größer war als in Gruppe B mit 2,29 mm. Der Unterschied war nicht signifikant (Tabelle 10).

Tabelle 10: Tumordicke nach Breslow

Tumordicke nach Breslow	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe A+B	p-Wert
Tumordicke (mm), Mittelwert ± SD	2,53 ± 1,94	2,29 ± 1,74	2,41 ± 1,85	0,368
[Bereich]	[0,8-10]	[0,5-11]	[0,5-11]	

Neben der Tumordicke wurde bei der Mehrzahl der Patienten (n=194, 97%) histologisch die Eindringtiefe des Primärtumors (Invasionslevel nach Clark) bestimmt. Fehlende Daten lassen sich auf externe histologische Befunde, bei denen der Clark-Level basierend auf der AJCC-Klassifikation 2009 teilweise nicht mehr aufgeführt wurde, zurückführen. Die Verteilung der Clark-Level in beiden Gruppen zeigt Tabelle 11. Der jeweils größte Anteil der Patienten wies einen Clark-Level IV auf, also eine Invasion des Primärtumors bis in das Stratum reticulare. Die geringen Unterschiede der Clark-Level waren nicht signifikant (p=0,476).

Tabelle 11: Invasionstiefe nach Clark

Gruppe	Clark-Level II	Clark-Level III	Clark-Level IV	Clark-Level V
Gruppe A, n (%)	3 (3,1)	31 (31,6)	60 (61,2)	4 (4,1)
Gruppe B, n (%)	6 (6,3)	37 (38,5)	49 (51,0)	4 (4,2)

Eine homogene Verteilung bezüglich der Tumorcharakteristika konnten auch hinsichtlich der Ulzeration des Primärtumors beobachtet werden. Ulzerationen fanden sich bei 33 Patienten der Gruppe A und bei 34 Patienten der Gruppe B (p=1,000).

4.2.2.3. Lokalisation des Primärtumors

Als Tumorlokalisationen wurden definiert: Obere Extremitäten, Stamm und untere Extremitäten. Primärtumoren der Kopf-Hals-Region waren per Selektionskriterien ausgeschlossen. Häufigste Tumorlokalisation insgesamt war der Stamm mit 90 Fällen. Bei 51 (Gruppe A) bzw. 39 (Gruppe B) Patienten wurde hier der Primarius diagnostiziert.

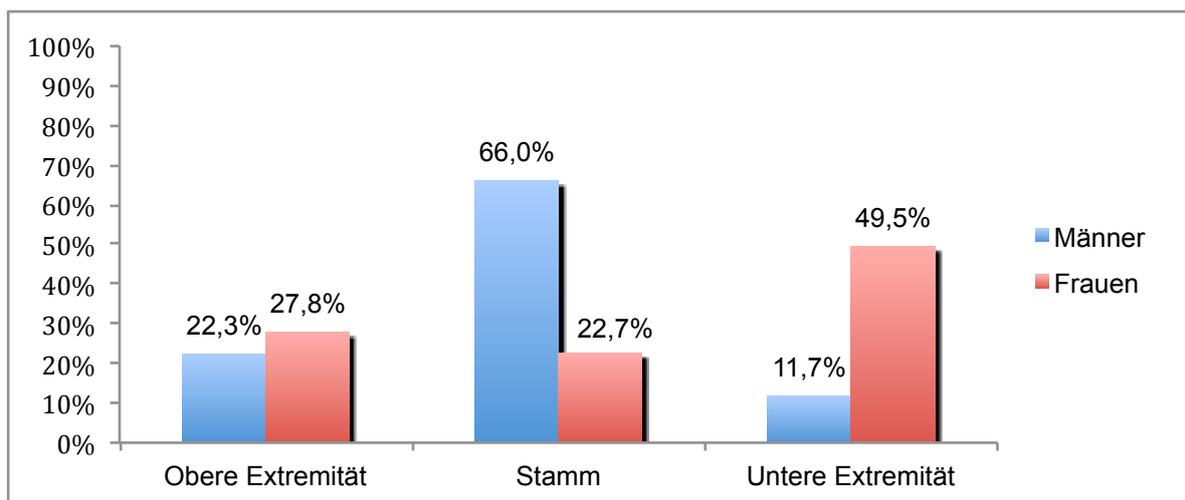
Bei 31 (A) bzw. 40 (B) Patienten befand sich der Primarius an den unteren und bei 18 (A) bzw. 21 (A) Patienten an den oberen Extremitäten (Details s. Tabelle 12). Die Unterschiede waren nicht signifikant (p=0,415).

Tabelle 12: Lokalisation der Primärtumoren

Primärtumor- Lokalisation	Obere Extremität		Stamm	Untere Extremität	
	Rechts	Links		Rechts	Links
Gruppe A, n (%)	7	11	51	12	19
Gruppe B, n (%)	7	14	39	20	20

In Abhängigkeit vom Geschlecht waren im Hinblick auf die Verteilung der Tumorlokalisationen in der Gesamtkohorte signifikante Unterschiede zu beobachten (Abbildung 6). Bei den Männern befand sich der Primärtumor mit 66,0% (n=68) am häufigsten am Stamm, gefolgt von der unteren Extremität (22,3%, n=23) und der oberen Extremität (11,7%, n=12). Anders die Verteilung bei den Frauen: Hier befand sich der Primärtumor in 49,5% der Fälle (n=48) an den unteren Extremitäten und in 27,8% der Fälle (n=27) an den oberen Extremitäten. Im Vergleich zu den Männern war der Stamm mit 22,7% (n=22) deutlich seltener betroffen ($p < 0,001$).

Abbildung 6: Geschlechtsspezifische Tumorlokalisation. Die Lokalisation der Primärtumoren ist abhängig vom Geschlecht: Bei den Männern findet sich der Primarius mit über 60% am Stamm, bei den Frauen mit über 70% an den Extremitäten ($p < 0,001$).



4.3. TNM-Stadien

4.3.1. T-Klassifikation

Es fanden sich im Tumorstadium T1 neun Patienten (Gruppe A) bzw. 14 Patienten (Gruppe B), im Stadium T2 jeweils 50 Patienten, im Stadium T3 23 bzw. 22 Patienten und im Stadium T4 18 bzw. 14 Patienten ($p=0,602$). Die größte Gruppe stellten Patienten mit dem Tumorstadium T2a (41%). Eine Übersicht gibt Tabelle 13.

Tabelle 13: T-Stadien der TNM-Klassifikation

Stadium	T1a	T1b	T2a	T2b	T3a	T3b	T4a	T4b
Gruppe A, n (=%)	3	6	39	11	18	5	6	12
Gruppe B, n (=%)	5	9	43	7	12	10	5	9
Gesamt, n	8	15	82	18	30	15	11	21

4.3.2. N-Klassifikation

Der größte Anteil des Patientenkollektivs wurde nach Abschluss der Primärversorgung (Nachexzision, Sentinel-Biopsie) als Stadium N0 klassifiziert (77 Patienten der Gruppe A und 73 aus Gruppe B). 15 Patienten aus Gruppe A und 17 Patienten aus Gruppe B wurden mit Stadium N1a (Nachweis einer Mikrometastase in einem Sentinel) diagnostiziert. Acht Patienten der Gruppe A wurden mit einem höheren Stadium als N1a diagnostiziert, während es in Gruppe B zehn Patienten waren. Kein Patient der Gruppe A und B befand sich im Stadium N1b bzw. N2b (Nachweis von Makrometastasen). Es lagen somit keine signifikanten Unterschiede vor ($p=0,629$). Die Verteilung im Detail zeigt Tabelle 14.

Tabelle 14: N-Stadien der TNM-Klassifikation

Stadium	N0	N1a	N2a	N2c	N3
Gruppe A, n (=%)	77	15	3	3	2
Gruppe B, n (=%)	73	17	8	1	1
Gesamt, n	150	32	11	4	3

Bei insgesamt sechs Patienten des Kollektivs wurden Satellitenmetastasen im Nachexzidat festgestellt, die jeweils in sano (R0) exzidiert wurden. Davon waren vier in Gruppe A und zwei in Gruppe B. 194 Patienten waren frei von Satellitenmetastasen.

4.4. Sentinel-Lymphknotenbiopsie

4.4.1. Intraoperativ gemessene Radioaktivität der Primärtumorregion und der exstirpierten Lymphknoten

In beiden Gruppen erfolgte die nuklearmedizinische Markierung des Primärtumors mittels ^{99m}Tc -Nanocoll am Vortag der geplanten Sentinel-Lymphknotenbiopsie. Vor Durchführung der Tumeszenz-Lokalanästhesie wurde die Zählrate (Cps) des Primärtumors unter Anwendung einer Gammasonde epikutan gemessen. In Gruppe A betrug die durchschnittliche Radioaktivität 1.494,51 Cps, in Gruppe B 1.776,61 Cps. Der Unterschied der direkt präoperativ gemessenen Radioaktivität im Bereich der Primärtumorregion im Vergleich der Gruppen war nicht signifikant ($p=0,133$).

Mittels Lymphabstromszintigraphie wurden am Vortag der Operation durchschnittlich 1,93 (Gruppe A) bzw. 1,65 (Gruppe B) Lymphknoten durch die Klinik für Nuklearmedizin als Sentinel-Lymphknoten identifiziert. Mit einem p-Wert von 0,110 lag kein signifikanter Unterschied der Gruppen vor.

Intra- und postoperativ wurde die Radioaktivität aller exstirpierten Lymphknoten gemessen. Der Lymphknoten mit der höchsten Zählrate (Cps) wurde als Referenz verwendet (Sentinel-Lymphknoten, SLN-Maximalwert). Lymphknoten mit einer Zählrate von $<20\%$ des SLN-Maximalwertes wurden als nachgeschaltete Lymphknoten, sogenannte NLN, definiert. Die Gesamtheit aller exstirpierten Lymphknoten, also SLN und NLN, werden im Folgenden als LN_{ges} bezeichnet.

Es wurden im Gesamtkollektiv 449 LN_{ges} entfernt, 349 SLN und 100 NLN. In Gruppe A fanden sich 177 SLN und 53 NLN, in Gruppe B 172 SLN und 47 NLN. Die intraoperativ durchschnittlich gemessenen Radioaktivitätsmaxima sind in Tabelle 15 detailliert wiedergegeben.

Im Gesamtkollektiv betrug die durchschnittliche Radioaktivität der SLN 13% der in der Primärtumorregion gemessenen Werte.

Auch wenn alle gemessenen Cps-Durchschnittswerte in Gruppe B tendenziell höher lagen, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen (Tabelle 20).

Tabelle 15: Direkt prä- bzw. intraoperativ gemessene Radioaktivität der Primärtumorregion, der SLN, NLN und LN_{ges}

Cps	Gruppe A	Gruppe B	Gesamtkollektiv	p-Wert
Primärtumorregion				
Mittelwert ± SD	1494,5 ± 498,8	1776,6 ± 914,6	1634,9 ± 747,3	0,133
[Bereich]	[413-3.323]	[320-4.252]	[320-4.252]	
SLN				
Mittelwert ± SD	198,5 ± 321,4	227,2 ± 231,8	212,6 ± 280,8	0,134
[Bereich]	[5-3.075]	[9-1.271]	[5-3.075]	
NLN				
Mittelwert ± SD	30,1 ± 69,1	30,7 ± 32,4	30,4 ± 54,6	0,200
[Bereich]	[0-467]	[0-115]	[0-467]	
LN_{ges}				
Mittelwert ± SD	160,2 ± 292,9	185 ± 221,2	172,3 ± 260,4	0,128
[Bereich]	[0-3.075]	[0-1271]	[0-3.075]	

Auch im Vergleich der Radioaktivität der exstirpierten SLN mit der jeweils höchsten Cps-Rate war bei durchschnittlichen Cps-Werten von 249,94 in Gruppe A bzw. 288,50 in Gruppe B kein signifikanter Unterschied festzustellen ($p=0,160$).

4.4.2. Charakterisierung der exstirpierten Lymphknoten

Innerhalb des Patientenkollektivs wurden durch die präoperative nuklearmedizinische Diagnostik 358 Lymphknoten als Sentinel-Lymphknoten markiert (SLN_{NM}). 193 davon wurden bei Gruppe A markiert, 165 waren es in Gruppe B. Dies entspricht einer SLN-Markierungsrate von 1,93 bzw. 1,65 pro Patient in Gruppe A bzw. B ($p=0,110$).

Es wurden 177 SLN in Gruppe A und 172 SLN in Gruppe B entfernt (SLN_{iop}). Somit wurden in Gruppe A pro Patient durchschnittlich 1,77 SLN exstirpiert, in Gruppe B waren es 1,72 SLN ($p=0,905$). Maximal wurden in Gruppe A wie auch in Gruppe B je vier SLN pro Patient geborgen, minimal ein SLN.

Im Gesamtkollektiv wurden insgesamt 449 Lymphknoten (LN_{ges}) entfernt, 349 SLN und 100 NLN. In Gruppe A fanden sich 53 NLN, in Gruppe B 47 NLN.

Somit wurden in Gruppe A im Durchschnitt 0,53 NLN pro Patient entfernt, in Gruppe B 0,47 NLN ($p=0,391$). Maximal wurden in beiden Patientenkollektiven vier NLN exstirpiert; in beiden Gruppen gab es Patienten, bei denen keine NLN entfernt wurde.

Bezüglich der Verteilung von SLN und NLN zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Eine Übersicht über die Charakteristika der markierten und exstirpierten Lymphknoten gibt Tabelle 16.

Tabelle 16: Anzahl markierter und exstirpiertes Lymphknoten im Vergleich der Gruppen

Lymphknoten	Gruppe A	Gruppe B	Gesamtkollektiv	p-Wert
SLN_{NM}*				
Mittelwert \pm SD	1,93 \pm 1,1	1,65 \pm 0,9	1,79 \pm 1,0	0,110
[Bereich]	[1-6]	[1-6]	[1-6]	
Anzahl, gesamt	193	165	358	
SLN_{iop}**				
Mittelwert \pm SD	1,77 \pm 0,9	1,72 \pm 0,8	1,74 \pm 0,9	0,905
[Bereich]	[1-4]	[1-4]	[1-4]	
Anzahl, gesamt	177	172	349	
NLN***				
Mittelwert \pm SD	0,53 \pm 0,8	0,47 \pm 0,8	0,50 \pm 0,8	0,391
[Bereich]	[0-4]	[0-4]	[0-4]	
Anzahl, gesamt	53	47	100	
LN_{ges}§				
Mittelwert \pm SD	2,30 \pm 1,2	2,19 \pm 1,1	2,25 \pm 1,2	0,702
[Bereich]	[1-6]	[1-5]	[1-6]	
Anzahl, gesamt	230	219	449	

* SLN_{NM}: nuklearmedizinisch detektierte Sentinel-Lymphknoten am OP-Vortag

** SLN_{iop}: intraoperativ detektierte Sentinel-Lymphknoten

*** NLN: intraoperativ detektierte Non-Sentinel-Lymphknoten

§ Gesamtheit der exstirpierten Lymphknoten

4.4.3. Lokalisationen der Sentinel-Lymphknoten

4.4.3.1. Vergleich der nuklearmedizinisch markierten SLN-Bassins mit den intraoperativ gefundenen Sentinels

In 233 von 239 nuklearmedizinisch definierten SLN-Regionen (Bassins) konnte intraoperativ mindestens ein SLN nachgewiesen werden, was einer Gesamt-Detektionsrate von 97,5% entspricht.

Das am häufigsten nuklearmedizinisch markierte SLN-Bassin war die Axilla, bei 77 Patienten der Gruppe A und 63 Patienten der Gruppe B. Eine inguinale Lokalisation lag bei 37 bzw. 50 Patienten vor. Andere Lokalisationen des SLN (cubital, popliteal und supraclaviculär) waren deutlich seltener (s. u.). In sechs von 239 nuklearmedizinisch markierten Bassins ließen sich intraoperativ keine SLN nachweisen: in drei axillären, zwei poplitealen und einer supraclaviculären Region. Die regionspezifischen Detektionsraten betragen für die Leistenregion 100% und für die Axilla 97,9%. Aufgrund kleiner Fallzahlen sind die Detektionsraten der übrigen Lokalisationen nicht repräsentativ.

Ein signifikanter Unterschied der Gruppen bezüglich der Detektionsraten lag nicht vor (Tabelle 17).

Tabelle 17: SLN-Bassins (nuklearmedizinisch markiert und intraoperativ)

Lokalisation der SLN-Bassins	Gruppe A		Gruppe B		Gesamtkollektiv	
	NM	iop	NM	iop	NM	iop
Axillär, n	77	75	63	62	140	137
Detektionsrate, %	97,4		98,4		97,9	
Inguinal, n	37	37	50	50	87	87
Detektionsrate, %	100		100		100	
Cubital, n	1	1	1	1	2	2
Detektionsrate, %	100		100		100	
Popliteal, n	1	1	2	0	3	1
Detektionsrate, %	100		0		33,3	
Supraclaviculär, n	7	6	0	0	7	6
Detektionsrate, %	85,7		0		85,7	

4.4.3.2. Lokalisationen der exstirpierten Sentinel-Lymphknoten

Die Operationsgebiete und die Lokalisation der Sentinel-Lymphknoten wurden zuvor durch die nuklearmedizinische Untersuchung bestimmt und markiert. Die Einteilung der Lokalisationen erfolgte in supraclaviculär, axillär, cubital (bzw. Oberarmbereich), inguinal und popliteal mit den jeweiligen Seitenangaben. Die Mehrheit aller exstirpierten Sentinel-Lymphknoten war axillär lokalisiert. 61,6% (109 SLN) der in Gruppe A und 52,3% (90 SLN) der in Gruppe B exziierten Sentinel-Lymphknoten befanden sich dort. Die zweithäufigste Lokalisation von SLN war die Leistenregion mit 34,5% (61 SLN) in Gruppe A und 47,1% (81 SLN) in Gruppe B. Diese Unterschiede in der Lokalisation der Lymphknoten zwischen Gruppe A und B waren signifikant ($p=0,014$). Möglicherweise wurde in der bzgl. des Auffindens des SLN potentiell einfacheren Region (Leiste) eher auf die zusätzliche Farbmarkierung verzichtet.

Seltenerer Regionen waren die Cubital-, die Popliteal- und die Supraclavikularregion, in denen nur vereinzelt SLN geborgen wurden. Eine vollständige Übersicht über die SLN-Lokalisationen gibt Tabelle 18.

Tabelle 18: Sentinel-Lymphknoten-Lokalisationen

Lokalisation	Axillär	Inguinal	Cubital	Popliteal	Supraclavikulär
Gruppe A, n (%)	109 (61,6)	61 (34,5)	0 (0)	1 (0,6)	6 (3,4)
Gruppe B, n (%)	90 (52,3)	81 (47,1)	1 (0,6)	0 (0)	0 (0)
Gesamt, n (%)	199 (57)	142 (40,7)	1 (0,3)	1 (0,3)	6 (1,7)

4.4.4. Histologische Untersuchung der entnommenen Lymphknoten

Von den insgesamt 349 SLN wurden 54 histologisch und immunhistochemisch als positiv (Vorliegen von Mikrometastasen) bewertet. Dies entspricht einem Anteil von 15,5% aller exstirpierten SLN (Tabelle 19). In Gruppe A waren 26/177 SLN positiv (14,7%), in Gruppe B 28/172 (16,3%). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,768$).

In Gruppe A mit Anwendung von Patentblau fanden sich bei insgesamt 21 Patienten (21%) histologisch positive SLN, in Gruppe B ohne Anwendung von Patentblau fanden sich bei 26 Patienten (26%) positive SLN. Auch in dieser Hinsicht konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Von den insgesamt 100 exstirpierten NLN waren sieben positiv, zwei in Gruppe A und fünf in Gruppe B. Dies entspricht einem Anteil von sieben Prozent der exstirpierten NLN (Tabelle 19).

Tabelle 19: Histologisch und immunhistochemisch positive SLN und NLN

Positive Lymphknoten	SLN	NLN
Gruppe A, n (%)	26/177 (14,7)	2/53 (3,8)
Gruppe B, n (%)	28/172 (16,3)	5/47 (10,6)
Gesamt, n (%)	54/349 (15,5)	7/100 (7)

In Gruppe A fanden sich bei einem Patienten zwei histologisch positive Non-Sentinel-Lymphknoten. Beide NLN waren axillär lokalisiert. Während der Erste der beiden NLN eine intensive Anfärbung mit Patentblau aufzeigte, fehlte diese Anfärbung bei dem zweiten NLN gänzlich. Auch die Zählrate der ausstrahlenden Radioaktivität des zweiten NLN mit drei Cps war analog zur Farbanreicherung deutlich geringer als die Zählrate des ersten positiven NLN mit 32 Cps. In Gruppe B fanden sich bei vier Patienten fünf histologisch positive Non-Sentinel-Lymphknoten. Allesamt waren diese positiven NLN in der Axillarregion der jeweiligen Patienten lokalisiert. Hinsichtlich der Unterschiede zwischen den Gruppen konnte hierbei keine Signifikanz festgestellt werden.

In Abhängigkeit vom histologischen Status der Lymphknoten waren 29 der 54 als positiv befundenen Sentinel-Lymphknoten axillär gelegen (53,7%). 14 der 29 SLN entfielen dabei auf die Patienten der Gruppe A, 15 auf die Patienten der Gruppe B. Die zweithäufigste Lokalisation der histologisch und immunhistochemisch positiven Sentinel-Lymphknoten war mit 23 von 54 positiven SLN die Leiste (42,6%). In Gruppe A waren zehn der 23 SLN und in Gruppe B 13 von 23 SLN inguinal lokalisiert. Einer von den sechs supraclaviculär entnommenen SLN der Gruppe A wurde, ebenso wie der als einziger popliteal detektierte SLN, als positiver Lymphknoten befundet (vgl. Abbildung 7).

Bezogen auf die unterschiedlichen LK-Regionen (Bassins) fanden sich weder in der Gesamtheit ($p=0,318$), noch innerhalb der Gruppen (A: $p=0,177$; B: $p=1$) signifikant unterschiedliche Raten an positiven SLN. Eine Übersicht gibt Tabelle 20.

Abbildung 7: Histologischer Status der exstirpierten SLN (n) der Gesamtkohorte in Abhängigkeit von der Lokalisation

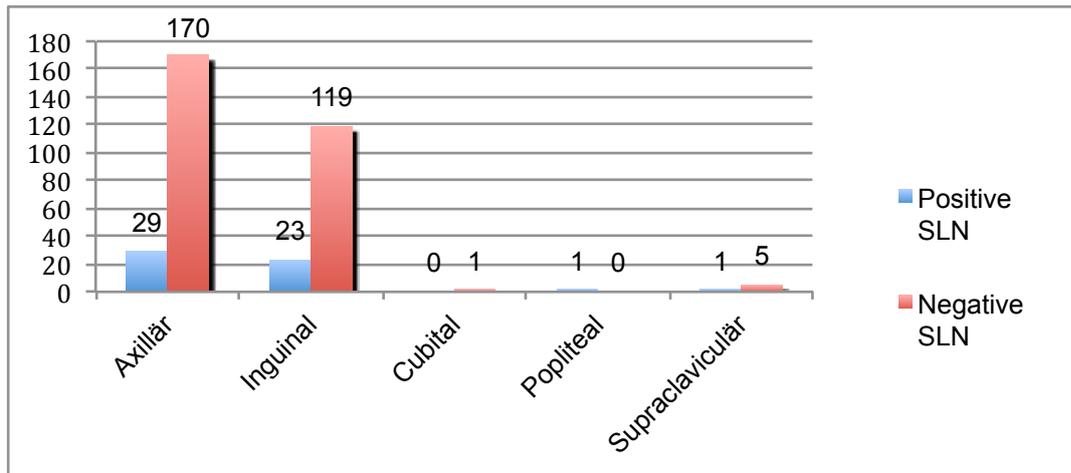


Tabelle 20: Histologischer und immunhistochemischer SLN-Status in Abhängigkeit von der Lokalisation

Lokalisation	Gruppe A		Gruppe B	
	SLN-Status		SLN-Status	
	+	-	+	-
Axillär, n (%)	14 (12,8)	95 (87,2)	15 (16,7)	75 (83,3)
Inguinal, n (%)	10 (16,4)	51 (83,6)	13 (16)	68 (84)
Cubital/Oberarm, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
Popliteal, n (%)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Supraclaviculär, n (%)	1 (16,7)	5 (83,3)	0 (0)	0 (0)

4.5. Subgruppen-Analyse Gruppe A

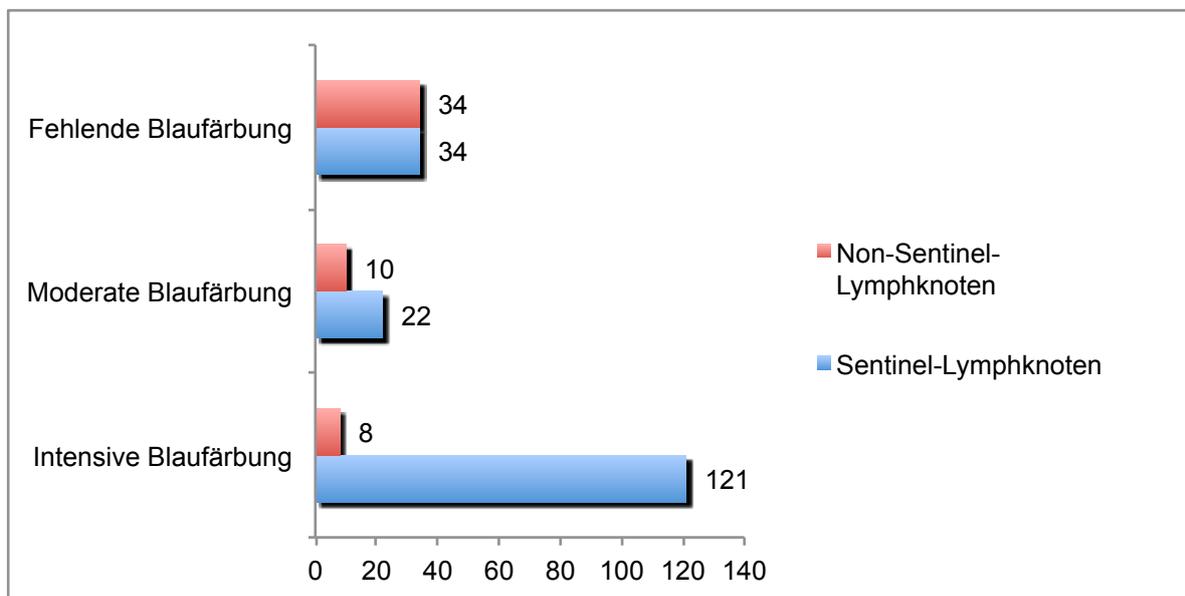
4.5.1. Patentblau-Färberate

Von den 177 SLN der Gruppe A waren 121 SLN stark mit Patentblau gefärbt, 22 SLN schwach gefärbt und 34 ungefärbt. Hieraus ergibt sich eine Patentblau-Färberate bei den per Gamma-Detektion als Sentinel gewerteten Lymphknoten von 80,8%.

Von den 53 NLN der Gruppe A hingegen waren acht NLN stark mit Patentblau gefärbt, zehn NLN schwach gefärbt und 34 ungefärbt. Hieraus ergibt sich eine Patentblau-Färberate bei den per Gamma-Detektion als Non-Sentinel gewerteten Lymphknoten im Gegensatz zu den SLN von nur 35,8% (vgl. Abbildung 8).

Abbildung 8: Anzahl (n) der SLN und NLN mit dem jeweiligen Färbungsverhalten

Die Abbildung zeigt, dass der größte Anteil der SLN (n=121) intensiv mit dem Patentblau-Farbstoff markiert war, während der größte Anteil der NLN (n=34) ungefärbt blieb.



4.5.2. Korrelation der Patentblau-Färbung mit der Radioaktivität

Zur Bewertung der Korrelation der Patentblau-Vitalfärbung mit der intraoperativ maximal gemessenen Radioaktivität (in Cps) wurden SLN und NLN separat betrachtet und abschließend alle exstirpierten Lymphknoten (SLN und NLN) einbezogen (LN_{ges}).

Die mittlere Radioaktivität der stark gefärbten SLN betrug 245,8 Cps, der schwach gefärbten SLN 107,8 Cps und der ungefärbten 89,0 Cps. Die Unterschiede der Radioaktivität der Gruppe der stark gefärbten SLN im Vergleich zu den Gruppen der schwach gefärbten ($p=0,001$) und der ungefärbten SLN ($p<0,001$) war trotz der niedrigen Fallzahlen in den beiden Letztgenannten jeweils signifikant.

Im Vergleich der Gruppen der schwach gefärbten gegenüber den ungefärbten SLN konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden ($p=0,557$).

Insofern zeigt sich eine deutliche Korrelation der stark gefärbten SLN mit der intraoperativ maximal gemessenen Radioaktivität, während die schwach gefärbten SLN eher eine

Gemeinsamkeit mit den ungefärbten SLN im Vergleich zur gemessenen Radioaktivität aufweisen.

Bei den NLN betrug der Mittelwert der Radioaktivität der stark gefärbten NLN 84,0 Cps, der schwach gefärbten NLN 39,3 Cps und der ungefärbten NLN 14,7 Cps. Die Unterschiede der Radioaktivität der Gruppe der stark gefärbten NLN im Vergleich zur Gruppe der schwach gefärbten ($p=0,696$) war im Gegensatz zum Unterschied zur Gruppe der ungefärbten NLN ($p=0,003$) nicht signifikant. Ebenfalls signifikant stellte sich der Unterschied zwischen der Gruppe der schwach gefärbten NLN und der Gruppe der ungefärbten NLN dar ($p=0,014$).

Tabelle 21: Cps SLN,NLN und LN_{ges} im Verhältnis zur Farbintensität

Radioaktivität [Cps]	SLN	NLN	LN _{ges}
Intensive Färbung			
Mittelwert ± SD	245,8 ± 375,7	84,0 ± 155,9	235,7 ± 367,7
[Bereich]	[5-3075]	[3-467]	[3-3075]
Schwache Färbung			
Mittelwert ± SD	107,8 ± 91,3	39,3 ± 42,0	86,4 ± 84,8
[Bereich]	[12-326]	[2-119]	[2-326]
Fehlende Färbung			
Mittelwert ± SD	89,0 ± 80,1	14,7 ± 27,8	51,8 ± 70,3
[Bereich]	[17-450]	[0-147]	[0-450]
p-Werte			
[intensive/schwache Färbung]	$p=0,001$	$p=0,696$	$p<0,001$
[intensive/fehlende Färbung]	$p<0,001$	$p=0,003$	$p<0,001$
[schwache/fehlende Färbung]	$p=0,557$	$p=0,014$	$p=0,008$

Die mittlere Radioaktivität aller Lymphknoten LN_{ges} (SLN und NLN) betrug 160,0 Cps, wobei die Radioaktivität aller stark gefärbten Lymphknoten im Mittel bei 235,7 Cps lag, die der schwach gefärbten betrug 86,4 Cps und die der ungefärbten 51,8 Cps.

Bei der Zusammenschau aller gefärbten Lymphknoten konnte ein deutlich signifikanter Unterschied der Radioaktivität der Gruppe der stark gefärbten Lymphknoten im Vergleich zur Gruppe der schwach gefärbten Lymphknoten ($p < 0,001$) und der Gruppe der ungefärbten festgestellt werden ($p < 0,001$). Auch im Vergleich der Gruppe der schwach gefärbten Lymphknoten und der Gruppe der ungefärbten Lymphknoten konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,008$).

Die detaillierten Daten zur Korrelation der Farbintensität mit der Radioaktivität sind der Tabelle 21 zu entnehmen.

4.5.3. Korrelation der Patentblau-Färbung mit dem histologischen Ergebnis

Um die Korrelation des histologischen Ergebnisses mit der Patentblaufärbung zu analysieren, wurden wiederum SLN und NLN zunächst separat betrachtet und anschließend alle exstirpierten Lymphknoten (LN_{ges}) in die Analyse einbezogen.

In der Gruppe der stark gefärbten SLN fanden sich Mikrometastasen bei 22/121 (18,2%) der Lymphknoten, in der Gruppe der schwach gefärbten bei 1/22 (4,5%) und in der Gruppe der ungefärbten bei 3/34 (8,8%) der Lymphknoten. Bei den Vergleichen der Gruppen untereinander in jeglicher Konstellation ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Es zeigte sich lediglich ein Trend beim Vergleich der stark gefärbten SLN gegenüber den in einer Gruppe zusammengefassten schwach und nicht gefärbten SLN ($p = 0,068$).

Bei 1/8 (12,5%) der stark gefärbten NLN fanden sich Mikrometastasen, in der Gruppe der schwach gefärbten NLN konnten hingegen keine Mikrometastasen gefunden werden. Die Radioaktivität des stark gefärbten und histologisch positiven NLN betrug lediglich 32 Cps. In der Gruppe der nicht gefärbten NLN war einer von 35 (2,9%) der Lymphknoten positiv für Mikrometastasen, dessen Radioaktivität betrug zum Entnahmezeitpunkt 3 Cps. Im Vergleich der Gruppen der stark, schwach und ungefärbten NLN untereinander ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,321$).

In der Gruppe aller stark gefärbten Lymphknoten (LN_{ges}) fanden sich in 23/129 Lymphknoten (17,8%) Mikrometastasen, in der der schwach gefärbten Lymphknoten war 1/32 (3,2%) positiv und 4/69 (5,8%) der ungefärbten Lymphknoten enthielten Mikrometastasen. Hier konnte ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Intensität der Färbung und des histologischen Status der jeweiligen Lymphknoten festgestellt werden ($p = 0,015$).

Obwohl der Unterschied bei den Sentinel-Lymphknoten zwischen der Intensität des Farbstoffes und dem jeweiligen histologischen Status nicht signifikant ist, lässt sich dennoch eine Tendenz darstellen, dass LN mit einer intensiven Färbung häufiger Mikrometastasen enthalten als diejenigen, die eine geringe oder fehlende Farbeanreicherung aufweisen.

Diese Tendenz lässt sich in Zusammenschau aller exstirpierten Lymphknoten der Gruppe A (LN_{ges}) durch einen entsprechenden signifikanten Unterschied nachweisen (vgl. Tabelle 22). Beim Vergleich aller stark gefärbten Lymphknoten mit den in einer Gruppe zusammengefassten schwach und nicht gefärbten Lymphknoten ist ein deutlich signifikanter Unterschied des Färbeverhaltens in Korrelation mit dem histologischen Ergebnis zu beobachten ($p=0,004$).

Tabelle 22: Färbung und histologischer/immunhistochemischer Status von SLN, NLN und LN_{ges}

	Intensive Färbung		Schwache Färbung		Fehlende Färbung		p-Wert
	SLN-Status		SLN-Status		SLN-Status		
	+	-	+	-	+	-	
SLN	22	99	1	21	3	31	$p= 0,145$
NLN	1	7	0	10	1	33	$p= 0,321$
LN_{ges}	23	106	1	31	4	64	$p= 0,015$

4.5.4. Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis

Um eine Vergleichbarkeit der Patienten-Gruppen (Patienten mit Patentblau vs. Patienten ohne Patentblau) in diesem Kontext zu ermöglichen, wurde darüber hinaus die Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis analysiert. Hierbei wurden zwei Gruppen gebildet – histologisch positive und negative Lymphknoten – und die Radioaktivität beider Gruppen verglichen. Die mittlere Radioaktivität der histologisch positiven LN_{ges} der Gruppe A betrug 170,5 Cps, die der metastatisch nicht befallenen LN_{ges} 158,4 Cps. Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,118$).

4.5.5. Nebenwirkungen des Farbstoffs

Anaphylaxien auf den Farbstoff, wie sie in anderen Studien mit Häufigkeiten von bis zu 2% beobachtet wurden, konnte im gesamten Beobachtungszeitraum nicht festgestellt werden. Lediglich in einem Fall kam es zu einer permanenten Diskoloration im Bereich der

Primärtumornarbe am Rücken, die bis zur letzten Beobachtung 15 Monate postoperativ nachweisbar war.

4.6. Subgruppen-Analyse Gruppe B:

4.6.1 Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis

Analog zur Auswertung der Gruppe A wurde bei den Patienten ohne Patentblau (Gruppe B) ebenfalls die Korrelation der Radioaktivität mit dem histologischen Ergebnis untersucht (vgl. Tabelle 23). Die mittlere Radioaktivität in der Gruppe der histologisch positiven LN_{ges} betrug 259,2 Cps, in der Gruppe der metastatisch nicht befallenen LN_{ges} 173,2 Cps. Der Unterschied war nicht signifikant (p=0,149).

Tabelle 23: Histologischer LN_{ges}-Status und Radioaktivität

	Radioaktivität histologisch positiver LN _{ges} (Cps)	Radioaktiv histologisch negativer LN _{ges} (Cps)	p-Wert
Gruppe A			
Mittelwert ± SD	170,5 ± 167,8	158,4 ± 306,4	p=0,118
[Bereich]	[3-813]	[0-3075]	
Gruppe B			
Mittelwert ± SD	259,2 ± 310,6	173,2 ± 199,8	p=0,149
[Bereich]	[0-1271]	[0-942]	

Den histologischen Status der LN_{ges} betrachtet, ergab weder der Vergleich der Gruppen A und B bei den histologisch positiven LN_{ges} (p=0,553) noch bei den histologisch negativen LN_{ges} (p=0,149) einen signifikanten Unterschied.

4.7. Klinische Nachbeobachtung, prognostische Relevanz des Einsatzes von Patentblau

Alle Patienten wurden im Rahmen der dermato-onkologischen Nachsorge weiter verfolgt, um Daten zu erheben, die mögliche Unterschiede der Gruppen im weiteren Krankheitsverlauf aufzeigen könnten. Hierbei interessierte zunächst die tatsächliche prognostische Bedeutung der Sentinel-Biopsie, die z. B. anhand der falsch-negativen Befunde gemessen werden kann.

Als falsche Negativität wurden die Fälle betrachtet, bei denen es trotz zunächst negativer Histologie des oder der Sentinel-Lymphknoten zu einer Metastasierung im betroffenen Bassins im Verlauf der Nachbeobachtungszeit gekommen war.

Bei einer medianen Nachbeobachtungszeit von 30 Monaten (Gruppe A) bzw. 40 Monaten (Gruppe B) wurde in Gruppe A bei einem von 79 (1,3%) und bei Gruppe B bei keinem von 74 Patienten, die initial einen negativen SLN-Befund aufwiesen, ein falsch-negativer Sentinel-Lymphknotenstatus detektiert.

Abbildung 9: Zeigt das rezidivfreie Überleben

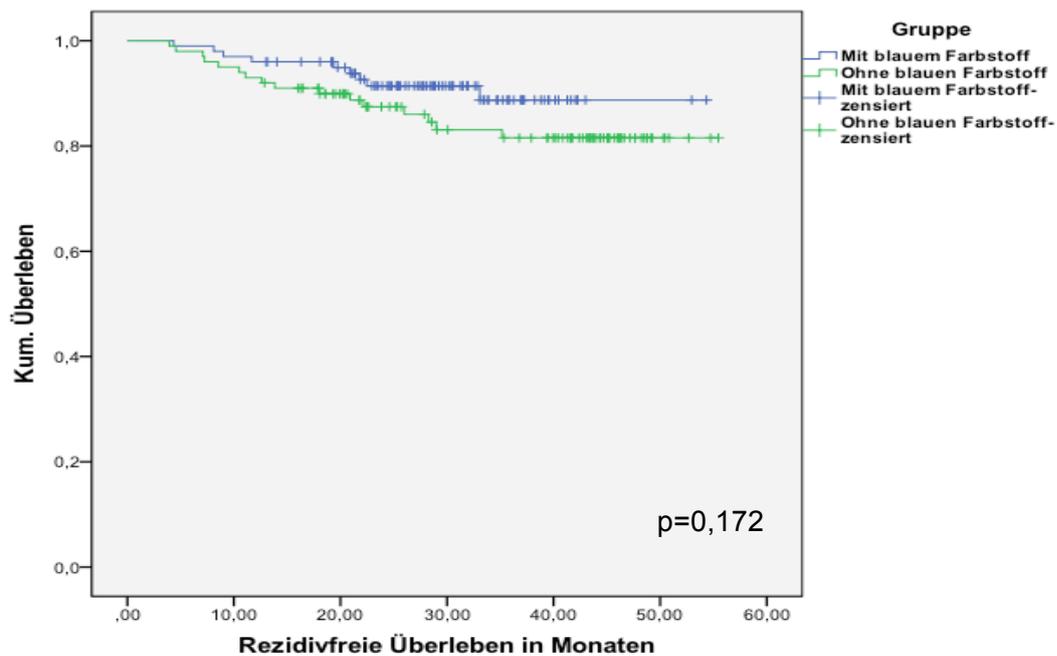


Abbildung 10: Zeigt das fernmetastasenfreie Überleben

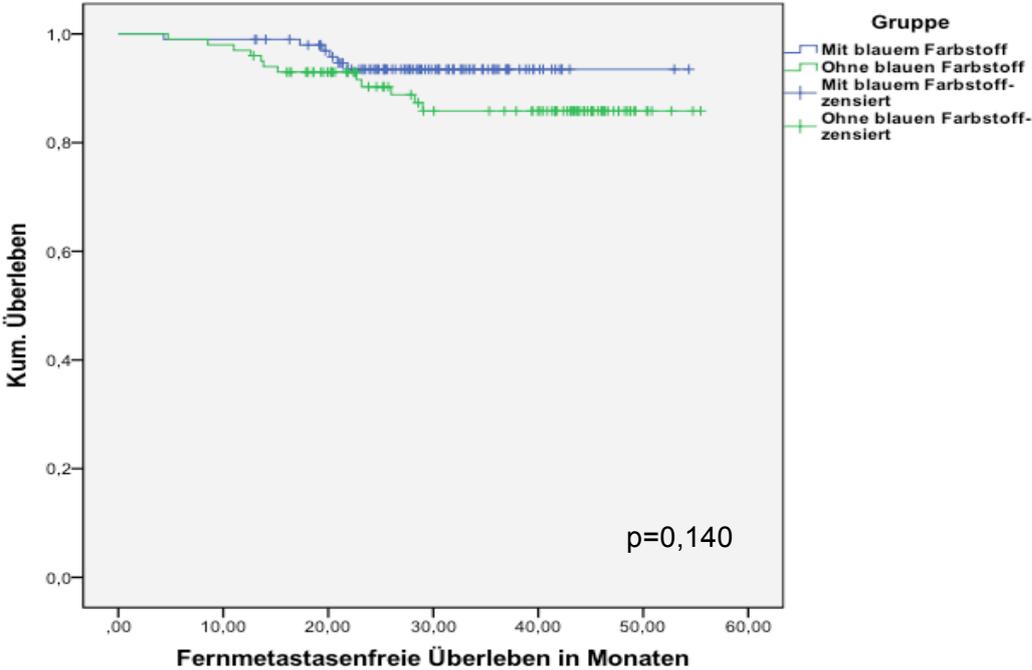
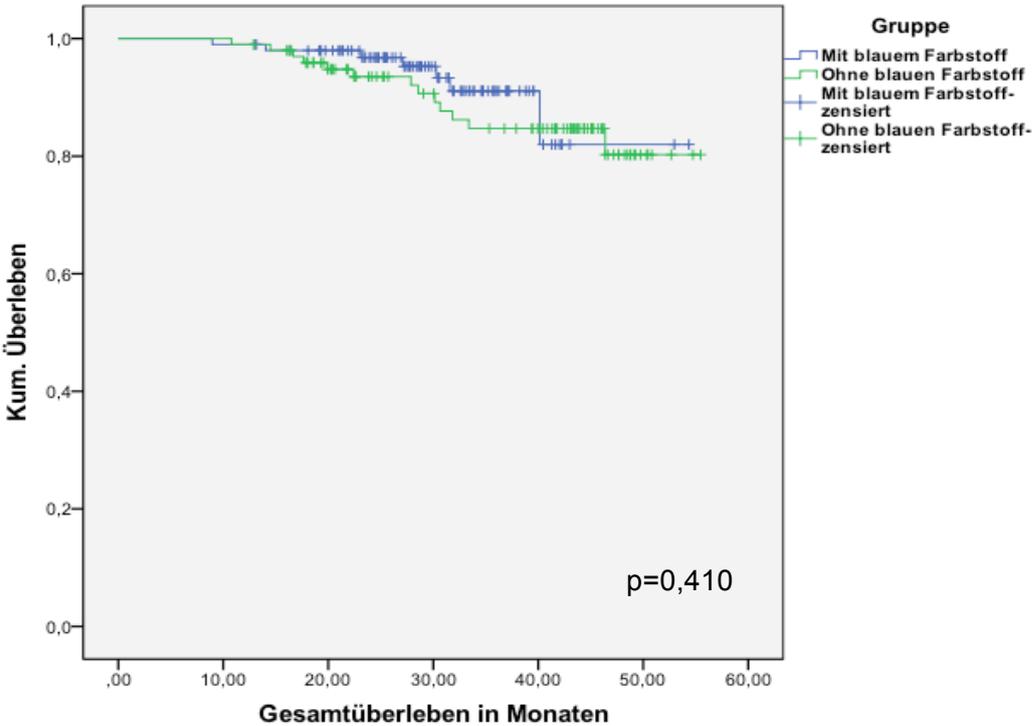


Abbildung 11: Zeigt das Gesamtüberleben



Anhand der Abbildungen 9-11 lassen sich Trends zugunsten der Gruppe mit Farbstoffmarkierung in Bezug auf das rezidiv- und fernmetastasenfreie Überleben darstellen. Jedoch erreichen die Unterschiede im durchgeführten Log-Rank-Test keine Signifikanz.

Insgesamt kam es im bisherigen Nachbeobachtungszeitraum zu 20 melanombedingten Todesfällen (sieben in Gruppe A, 13 in Gruppe B). Die häufigsten Todesfälle geschahen in Gruppe A in einem Zeitraum von 30 Monaten, jeweils zwei Fälle nach zwölf, 24 und zuletzt nach 30 Monaten postoperativ. Lediglich in einem Fall kam es zu einem Todeszeitpunkt über eine Nachbeobachtungszeit von 36 Monaten hinaus. Auch in Gruppe B kam es analog zu Gruppe A zu den häufigsten Todesfällen in einem Intervall bis zu 30 Monaten. Nähere Informationen sind Tabelle 24 zu entnehmen.

Mit Blick auf das Gesamtüberleben zeigten beide Gruppen gegenübergestellt keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 24: Anzahl (n) Todesfälle in Nachbeobachtungszeit

Monate	6	12	18	24	30	36	42	48
Gruppe A, n	0	2	0	2	2	0	1	0
Gruppe B, n	0	2	3	1	5	1	0	1
Gesamt, n	0	4	3	3	7	1	1	1

5. DISKUSSION

Der metastatische Befall eines Sentinel-Lymphknotens ist neben der Tumordicke des Primärtumors der wichtigste unabhängige Risikofaktor für das früh rezidivierende Melanom.[113] Die Biopsie und histopathologische Befundung des Wächterlymphknotens ist daher etablierter Bestandteil des Primärstaging bei Risikomelanomen.[70]

In dieser retrospektiven Studie wurde die Notwendigkeit des Einsatzes von Kolloidfarbstoffen (Patentblau V) in Verbindung mit der Anwendung von ^{99m}Technetium-Nanocoll gegenüber der alleinigen Anwendung von ^{99m}Technetium-Nanocoll bei Sentinel-Lymphknoten-Operationen untersucht.

An einer Kohorte von 200 Patienten konnte festgestellt werden, dass sich keine Unterschiede im Hinblick auf die Detektionsraten bei der Darstellung der Sentinel-Lymphknoten und hinsichtlich des Nachweises von positiven Sentinel-Lymphknoten bei den verglichenen Markierungstechniken ergaben. Auch die Raten Sentinel-positiver Patienten waren in beiden Gruppen nahezu identisch. Letztlich konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf das Gesamtüberleben, das rezidiv- und metastasenfreie Überleben zwischen beiden Gruppen ermittelt werden.

Wissenschaftliche Arbeiten, die die Wertigkeit des Einsatzes von Patentblau-Farbstoff in Kombination mit ^{99m}Technetium der Lymphknoten-Detektion durch alleinigen Einsatz von ^{99m}Technetium gegenüber stellen, fehlen auf dem Gebiet des malignen Melanoms. Eine thematisch vergleichbare retrospektive Arbeit, jedoch zur operativen Versorgung des Mamma-Karzinoms, liegt von Bines et al. vor. Er untersuchte in einer mehrjährigen Studie 392 Patienten, die sich einer Sentinel-Lymphknotenbiopsie unterzogen haben. Analog zu dem Vorgehen in dieser Arbeit teilten Bines et al. ihr Patientenkollektiv in zwei Gruppen ein. Sie fanden in der zusätzlichen Anwendung von Farbstoffen keinen signifikanten Vorteil, der diese Kombination rechtfertigen würde. Er kam zu dem Schluss, dass der Verzicht auf Kolloid-Farbstoffe (Patentblau, Isosulfan-Blau, Methylenblau) weder zu einer qualitativen Abnahme der Identifikation von SLN, zu einer verminderten Anzahl exstirpierter SLN, noch zu einer geringeren Rate an positiven SLN führt.[14]

Aktuelle Publikationen wie die von Morton et al. auf dem Forschungsgebiet des malignen Melanoms hingegen beschreiben die kombinierte Nutzung von Patentblau V mit einem radiomarkierten Kolloid als Standard zur intraoperativen Lokalisierung des Sentinel-Lymphknotens.[73] Die aktuelle Leitlinie zur Wächterlymphknoten-Biopsie empfiehlt eine präoperative Darstellung der Lymphabflusswege mittels Lymphszintigraphie und die intraoperative Detektion des Sentinel-Lymphknotens mit Hilfe einer Gammasonde.

Die Anwendung von Patentblau kann gemäß der Leitlinie elektiv erfolgen, wird jedoch nicht ausdrücklich empfohlen, da sie unerwünschte Nebenwirkungen wie anaphylaktische Reaktionen, permanente Diskoloration der Injektionsstelle und Injektionsschmerz verursachen kann.[10][62][70] Auf der anderen Seite lassen sich SLN durch die Anwendung des Farbstoffes und die damit einhergehende Färbung der Lymphbahnen und -knoten leichter darstellen.[65][17]

Gershenwald et al. berichten von einer Steigerung der SLN-Identifikationsrate von 87% bei dem alleinigen Gebrauch von Isosulfan-Blau-Farbstoff auf 99% bei der Kombination von Farbstoff mit einem Radiopharmakon.[41] Ähnliche Ergebnisse beschreiben auch Glass et al. in ihrer Studie. Mit der kombinierten Anwendung von Farbstoff und radioaktivem Kolloid betrug die Detektionsrate 97%.[44] Kapteijn et al. berichten von einer Detektionsrate von 84% bei der singulären Anwendung von Patentblau gegenüber 99,5% bei kombinierter Nutzung von radioaktivem Kolloid und Farbstoff.[59] Diese Studien belegen somit vor allem die Bedeutung der radioaktiven Markierung für die Steigerung der Detektionsrate des SLN, klären aber nicht, ob der zusätzliche Einsatz des Farbstoffs die Detektionsrate noch darüber hinaus steigern kann.

5.2. Diskussion der Methoden

Insgesamt 200 Patienten wurden unter Berücksichtigung der Selektionskriterien aus dem Patientengut der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie (Zeitraum 01/2008 bis 12/2010) ausgewählt. Diese konnten entsprechend der Fragestellung in zwei Gruppen mit je 100 Patienten unterteilt werden. Die Größe des Patientenkollektivs ist annähernd vergleichbar mit der Anzahl derer in zahlreichen anderen Publikationen unter anderem von Glass et al. und Kretschmer et al., welche die Wertigkeit der Anwendung von Farbstoffen bei der SLNB untersuchten.[44][65]

5.2.1. Operatives Vorgehen

Sämtliche Sentinel-Lymphknoten-Operationen fanden an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie statt. Der Operateur hatte im Vorfeld dieser Untersuchung bereits mehrjährige Erfahrung in der Durchführung von Sentinel-Lymphknoten-Operationen und mindestens 70 dieser Eingriffe selbstständig durchgeführt. In der Literatur wird eine Eingriffszahl von 30 als Lernkurve zur suffizienten Ausführung der SLNB angesehen.[89][1] Ein möglicher Qualitäts-Bias durch mangelnde Routine der SLNB kann für diese Untersuchung somit ausgeschlossen werden.

In multizentrischen Studien werden ähnliche Lernkurven auch für die beteiligten Pathologen (histopathologische Bewertung der SLN) und Nuklearmediziner (Lymph-abstromszintigraphie) antizipiert und als Qualitätsmerkmal eine Mindestanzahl an Untersuchungen von n=30 verlangt.[76] Auch dieses Kriterium ist für die vorliegende Untersuchung erfüllt.

Sadeghi et al. beschrieben in ihrer Studie über die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie bei Patientinnen mit Mamma-Karzinom, dass Ärzte, welche die Lernkurve von mindestens 30 SLNB nicht erreicht hatten, im besonderen Ausmaß von der Verwendung des blauen Farbstoffes profitierten. Im Gegensatz zu der bereits zitierten Studie von Bines et al. zeigten sie, dass die kombinierte Anwendung von blauem Farbstoff und Isotopenmarkierung zu einer erhöhten Detektionsrate von Sentinel-Lymphknoten insgesamt und insbesondere eine um 21,4% erhöhte Detektionsrate von positiven SLN bei unerfahrenen Chirurgen führte.[90] Veenstra et al. beschrieben in ihrer Arbeit eine Lernkurve, die sie anhand von in der Nachbeobachtungszeit diagnostizierten falsch-negativen SLN-Biopsien festlegten. So kam es in ihrer Studie im Verlauf des ersten Jahres nach Einführung der SLN-Biopsie zu einer gehäuften Anzahl an falsch-negativen SLN und zu einer gesamten falsch-negativen Rate von 1.8% (zehn von 544 Patienten, welche initial einen negativen SLN-Status aufwiesen) bei einer medianen Nachbeobachtungszeit von 28 Monaten. Die Quote von falsch-negativen SLN-Biopsien lag in der hier vorliegenden Untersuchung bei 1,3% (A) und bei 0% (B), worauf im Folgenden noch näher eingegangen wird.[106]

In 97,5% der Fälle konnte mindestens ein SLN in den 239 am Vortag nuklearmedizinisch bestimmten SLN-Bassins gefunden werden. Kretschmer et al. geben eine intraoperative Identifikationsrate von 99,2% bei Anwendung von Vitalfärbung und Gammasonden-Detektion in Kombinationstechnik an, Gershenwald et al. eine Identifikationsrate von 93%.[65][42] Analog zu der Arbeit von Gershenwald et al., deren häufigstes markiertes Bassin die Axillarregion war, waren auch in dieser Studie die meisten Sentinel-Bassins axillär lokalisiert (58,6%). Die Detektionsrate in diesem Gebiet war mit 97,9% vergleichbar mit der von Gershenwald et al. (91%). Eine hundertprozentige Detektionsrate konnte im Inguinalbereich erreicht werden. Hier wurde in allen 87 nuklearmedizinisch markierten Bassins mindestens ein Wächterlymphknoten aufgefunden. Gershenwald et al. führen für die Detektion im Inguinalbereich eine vergleichbare Rate von 97% auf.[42]

Ein statistisch signifikanter Unterschied in Bezug auf die Häufung von inguinal lokalisierten SLN der Gruppe B (52,3% aller SLN versus 34,5% bei Gruppe A) lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit durch eine Vorauswahl des Einsatzes des Patenblau-Farbstoffes durch den Operateur erklären.

Dieser Selektionsbias im Rahmen einer nicht randomisierten Registerstudie lässt sich am ehesten dadurch begründen, dass die inguinalen Sentinel-Lymphknoten aufgrund ihrer oberflächlicheren anatomischen Lokalisation im Vergleich zu den axillären SLN leichter aufzufinden sind und somit die zusätzliche Blaumarkierung inguinal eher entbehrlich ist (s. o.). Für dieses Phänomen lassen sich auch Belege in der Literatur finden. Einige Autoren raten zum Einsatz des Farbstoffes bei besonders tief liegenden SLN und bei anatomisch herausfordernden Lokalisationen wie beispielsweise dem Hals-Kopfbereich, da es in diesen Regionen häufig zu Überlagerung der Gammastrahlung aus dem Primarius- und dem Sentinelgebiet kommen kann.[16]

5.2.2. Histologische Aufarbeitung

Ebenfalls an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie erfolgte die histopathologische Aufarbeitung und diagnostische Beurteilung des Primärtumors und der entnommenen Sentinel-Lymphknoten.

Als Referenzzentrum für Patienten, die zudem in die Sentinel-Studie der ADO/DGDC (Elektive Lymphadenektomie versus Beobachtung bei positivem Wächter-Lymphknoten, Version 15; 24.01.2008) aufgenommen wurden, diente das Berliner Referenz- und Konsultationszentrum für Lymphom- und Hämatopathologie. Somit bestand neben der seit 2000 etablierten histopathologischen Sentinel-Diagnostik eine externe Qualitätskontrolle für einen Teil der Patienten mit positivem SLN.

Die Aufarbeitung der Wächterlymphknoten (Fixierung und Lamellierung), die Färbung (HE und immunhistochemische Färbung) sowie die Befundung erfolgten in unserer Studie standardisiert und korrespondierend mit der gängigen Literatur.[97]

Die Literaturrecherche zeigte keine Studien, die einen positiven oder negativen Einfluss von intraoperativ applizierten Farbstoffen auf die histologische Auswertung der SLN untersuchten. Innerhalb dieser Untersuchungsreihe wurde kein Hinweis auf solche Einflüsse gefunden.

Die Positivitätsrate der Sentinel-Lymphknoten in dieser Untersuchung beträgt 15,5% und ist vergleichbar mit den in der Literatur beschriebenen Raten (z. B. 17,5% bei Gershenwald et al. und 16% bei Morton et al.).[41][79] Die Anzahl der positiven Patienten in Gruppe A mit 21%, in Gruppe B 26% respektive, ließ sich in der Literatur reproduzieren. So wurde in der Studie bei Pfütznner et al. bei 20% der Patienten mindestens ein positiver SLN detektiert, bei McMasters et al. bei 24,3% der Patienten und in einer Arbeit von Veenstra et al. bei 23%. [81][73][106]

5.2.3. Nuklearmedizinische Markierung des SLN

Sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B kam ^{99m}Tc in Verbindung mit intraoperativer Ortung des Wächterlymphknotens mit einer Gamma-Sonde zum Einsatz. Der alleinige Gebrauch von Patentblau-Farbstoff (Kolloidfarbstoff) wurde aufgrund der diagnostischen Vorteile der Gamma-Sonden-Technik von vornherein nicht in Erwägung gezogen, da in zahlreichen Studien der additive Nutzen der Anwendung von Technetium und intraoperativer Gamma-Sonden-Anwendung gegenüber alleiniger Farbstoffmarkierung belegt wurde.[76][41][59][1]

Die vorherige dynamische Lymphszintigraphie fand an der Klinik für Nuklearmedizin der Universitätsklinik des Saarlandes unter standardisierten Bedingungen statt. Als Protokoll diente hierzu die „Verfahrensanweisung für die nuklearmedizinische Wächter-Lymphknoten (sentinel lymph node; SLN) – Diagnostik“.[107] Die Qualitätssicherung gemäß der Verfahrensanweisung wurde durchgeführt.

Die Applikation des Tracers mit einer Gesamtaktivität von 40-100 MBq wurde am Vortag der Operation durchgeführt. Ähnliche Zeitintervalle waren auch bei Bergkvist et al. nachzulesen.[12] Bei Kuehn et al. erfolgte die Injektion 4-18 Stunden vor Operationsbeginn, jedoch hatte die frühe Injektion keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Detektionsrate.[43][68]

In jedem Fall sollte die Applikationsmenge und der Zeitraum der Applikation so gewählt werden, dass zum Operationszeitpunkt ein zur Durchführung der Messung ausreichendes Targetsignal zur Verfügung steht. In dieser Studie war bei jedem Patienten der beiden Gruppen ein ausreichendes Targetsignal im Bereich des Primärtumors messbar, auch wenn sich intraoperativ in sechs von 239 markierten Bassins keine Wächterlymphknoten detektieren ließen (s. o.).

5.2.4. Patentblau-Farbstoff

Bei Patienten der Gruppe A kam Patentblau V als Farbstoff zum Einsatz.

Die Verwendung von Farbstoffen zur Vitalfärbung im Rahmen der SLNB wird in der Literatur kontrovers diskutiert: Welcher Farbstoff soll appliziert werden und ist der Einsatz überhaupt gerechtfertigt?

Morton et al. definierten die Doppelmarkierung mit PB und Gamma-Detektion (Gamma-Probe-Detection = GPD) nach ^{99m}Tc -Lymphszintigraphie als Standard in der SLN-Diagnostik.

De Oliveira Filho et al. zeigten in ihrer Studie, dass die alleinige Anwendung von PB der gleichzeitigen Anwendung von PB in Verbindung mit GPD äquivalent sei.[27]

Dies hat sich bisher jedoch weder im klinischen Alltag, noch in den Leitlinien zur Diagnostik des malignen Melanoms durchsetzen können. Im Gegenteil kamen in den letzten Jahren immer mehr Autoren zu dem Ergebnis, dass sich durch den kombinierten Einsatz von Farbstoff und radioaktiv markierten Kolloiden die Detektionsrate signifikant steigern lässt und somit die alleinige Blaufärbung als obsolet einzustufen ist (s. o.).

Mehrere Autoren berichteten über zahlreiche Nebenwirkungen durch die Anwendung von PB. Die Häufigkeit, mit der Nebenwirkungen auftreten, wird in der Literatur mit 0-1% angegeben.

Diese reichen von leichten Reaktionen der Haut wie Urtikaria, Pruritus und generalisiertes Exanthem über mittelschwere Reaktionen wie vorübergehende Hypotension, Bronchospasmus und Laryngospasmus bis hin zu Reaktionen, bei denen (mit Vasopressoren) behandlungsbedürftige Hypotensionen auftraten.**[62][10]**

Jeudy et al., Keller et al. und Hunting et al. publizierten sogar schwerwiegende Komplikationen, bei denen es zu intraoperativen reanimationspflichtigen Anaphylaxien nach Gabe von PB V kam.**[53][55][62]**

Als hauptsächliche Nebenwirkungen werden in der Literatur generalisierte Urtikaria, Pruritus, Exantheme, vorübergehende Hypotension (nicht behandlungsbedürftig) und Tachykardie genannt. Im Rahmen der Studie von Bines et al. kam es zu zwei Fällen von anaphylaktischen Reaktionen (1,3%).**[14]** Häufigkeitsangaben zu lebensbedrohlichen Komplikationen aus systematischen Übersichtsarbeiten ließen sich in der Literatur nicht finden. In ihrer Übersichtsarbeit konnten Bézu et al. keine Studien benennen, bei denen es zu letalen Ausgängen nach Injektion von Farbstoffen gekommen war.**[13]**

Bei den durchgeführten Operationen, die dieser Studie zugrunde liegen, mit einer applizierten Menge von max. 2 ml PB V kam es zu keinerlei anaphylaktischen/anaphylaktoiden, kutanen oder kardiovaskulären Reaktionen.

Über eine Dosisabhängigkeit auftretender Nebenwirkungen nach Applikation von PB berichten Keller et al. Während die Inzidenz von kutanen und kardiovaskulären Nebenwirkungen bei einer applizierten Menge von 4 ml bis zu 1 % betragen kann **[62]** liegt sie bei einer zu applizierenden Menge von 1-2 ml bei 0 %.**[78]**

Als weitere Nebenwirkung werden dauerhafte Kolorationen an der Injektionsstelle des PB berichtet. Silberstein et al. publizierte einen Fall einer 33-jährigen Frau, bei der es zu einer über neun Monate dauernden blauen Verfärbung im Bereich der Exzisionswunde kam.**[95]**

Ein ähnlicher Fall konnte auch innerhalb dieses Patientenkollektives beobachtet werden. Es kam bei einer Patientin zu einer Diskoloration am Rücken, die länger als zwölf Monate bestand und möglicherweise nicht mehr spontan reversibel ist. Die Quote an unerwünschten Arzneimittelwirkungen entsprach demnach in dieser Studie 0,5%. Vergleichend beschreiben Kretschmer et al in einer Arbeit eine Quote von 0,4% für eine Patentblau-Tätowierung bei SLNB unter 255 Patienten.**[65]**

Eine bekannte Komplikation operativer Eingriffe an Lymphknoten stellt die Ausbildung von Seromen und Lymphfisteln dar, die mit einer Häufigkeit von 6,9 % (Kretschmer et al.) und 4,4% (vgl. Morton et al.) nach SLNB angegeben wird.[66][78] Möglicherweise beeinflusst auch die Detektionsmethode im Rahmen der SLNB die Häufigkeit dieser Komplikationen. In der Literatur konnten Hinweise für das Auftreten von Seromen bei solitärem Gebrauch von Kolloid-Farbstoffen wie Patentblau/Isosulfan/Methylenblau gefunden werden. So publizierten Kretschmer et al. Serombildungen bei 15% der Patienten nach alleiniger Anwendung von PB bei SLN-Biopsien.[65]

Als Grund für die erhöhte Rate an Serombildungen wurde eine „ausgedehntere Präparation bis zum Auffinden der Zielstrukturen“ diskutiert. Unter kombinierter Anwendung von PB und GPD verringerte sich die Häufigkeit auf 6,9%.[66] Somit ist es unwahrscheinlich, dass der eingesetzte Farbstoff per se postoperative Lymphkomplikationen induzieren kann, sondern die Operationstechnik hierfür eher maßgeblich ist. Wie sich allerdings die alleinige Markierung mit radioaktiven Kolloiden gegenüber der Doppelmarkierung auf die Rate an lymphatischen Komplikationen auswirkt, ist bislang nicht untersucht.

Als Alternativen zu PB V (wegen zahlreicher Nebenwirkungen und der Gefahr eines anaphylaktischen Schocks ist PB in Australien, den USA und Norwegen nicht zugelassen) können Isosulfan-Blau oder Methylen-Blau eingesetzt werden.[96] Der Isosulfan-Blau-Farbstoff, der überwiegend in den USA Verwendung findet, hat allerdings eine mit PB V vergleichbare Inzidenz an Nebenwirkungen.[10]

Varghese et al. und Zakaria et al. beschreiben in ihren Publikationen, dass die Rate an Nebenwirkungen bei dem Einsatz von Methylen-Blau geringer ist und dass allergische Reaktionen seltener auftreten.[8][115]

Studien die den Gebrauch von PB und Methylen-Blau vergleichend gegenüberstellen, zeigen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Detektionsraten (94,2% für Methylen-Blau vs. 92,9% für PB; $p > 0,05$).[29] Allerdings kann der Einsatz von Methylen-Blau zu Haut- und Fettnekrosen führen, wenn es lediglich subkutan und nicht intradermal injiziert wird.[91]

Aufgrund der geringen Quote an unerwünschten Nebenwirkungen, insbesondere des vollständigen Fehlens von allergischen bzw. pseudoallergischen Reaktionen in unserer Kohorte von 200 Patienten bestehen unseres Erachtens keine Nachteile durch den Gebrauch des Patentblau-Farbstoffes für die betroffenen Patienten, sofern ein Injektionsvolumen von 2 ml nicht überschritten wird. Diese Aussage wird durch Albertini et al. bekräftigt.[1]

5.2.5. Färbung der SLN

Von den 177 Sentinel-Lymphknoten, welche den Patienten der Gruppe A entnommen wurden, reicherten 143 Lymphknoten den Patentblau-Farbstoff an. 34 SLN ließen sich jedoch nicht anfärben und nur durch die Gamma-Detektion auffindig machen. Dies entspricht einer Färberate von 80,8%, die mit den Angaben in der Literatur sehr gut korreliert. Pfützner et al. geben eine Färberate von 80,3% an, Kretschmer et al. 87,7%.**[65][81]**

Die Färberate in diesem Patientenkollektiv ist somit einerseits mit den Angaben in der Literatur vergleichbar, andererseits bleibt festzuhalten, dass bei etwa jeder fünften SLNB eine Färbung mit PB nicht gelingt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Qualitätsstandards der vorliegenden Studie in Bezug auf die präoperative Vorbereitung, die operative Durchführung der SLNB sowie die anschließende histologische Auswertung den aktuellen Vorgaben und Literaturangaben entsprechen.

Die Färberate in Gruppe A entspricht den Angaben in der Literatur. In der hier untersuchten Patientenkohorte wurde, möglicherweise aufgrund der eher geringen Patientenzahl, keine anaphylaktischen/anaphylaktoiden Reaktionen beobachtet.

5.3. Repräsentativität der Stichprobe

Um die Repräsentativität der untersuchten Stichprobe zu bewerten, wird das Patientenkollektiv dieser Untersuchung im Folgenden hinsichtlich der demographischen Daten und der Tumorcharakteristika mit der epidemiologischen Literatur zum malignen Melanom verglichen.

5.3.1. Patientenalter und Geschlechtsverteilung

Die Geschlechtsverteilung innerhalb der Studie stellte sich homogen dar. 48,5% der Patienten waren Frauen (49,0% in Gruppe A bzw. 48% in Gruppe B) und 51,5% Männer (51,0% in Gruppe A bzw. 52,0% in Gruppe B). Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Garbe et al. aus 2009, die eine zunehmende Angleichung der Geschlechtsverteilung in Gebieten mit niedrigen Inzidenz-Raten für maligne Melanome in den 1990er Jahren postulieren, wie Daten des Zentralen Registers für maligne Melanome in Deutschland belegen.**[39][19]** Joose et al. verglichen die Geschlechtsverteilung unter 11.774 an malignem Melanom erkrankten Patienten, die im Münchener Krebsregister aufgenommen wurden, und stellten dabei eine nahezu ausgeglichene geschlechtsspezifische Verteilung der Patienten mit 49,3 % der Fälle bei Männern und 50,7% der Fälle bei Frauen fest.**[57]**

Auch Buettner et al. berichten in ihrer Studie von einer zunehmenden Angleichung der Geschlechtsverteilung innerhalb der letzten 35 Jahre.[19]

Das mediane Erkrankungsalter der Gesamtkohorte dieser Studie betrug 57,5 Jahre (Gruppe A 58 Jahre, Gruppe B 57 Jahre) und korreliert sehr gut mit den Daten aus der aktuellen Literatur. Rager et al. beschreiben ebenso wie Tiffet et al. ein medianes Erkrankungsalter von 57 Jahren [83][101], Garbe und Leiter [39] eines von 55 Jahren und Volkenandt et al. geben in ihrer Studie ein medianes Erkrankungsalter von 56 Jahren für die Jahre 1992 – 1997 an.[108]

Das in dieser Kohorte vorliegende durchschnittliche Erkrankungsalter für Männer von 58,9 Jahren in Gruppe A respektive 57,0 Jahren in Gruppe B entspricht dem von Joose et al. berichteten Durchschnittsalter von 58,5 Jahren für männliche Patienten bei Diagnosestellung. Die Frauen der an dieser Studie teilnehmenden Kohorte waren mit 53,3 Jahren in Gruppe A bzw. 53,2 Jahren in Gruppe B im Vergleich zur Literatur geringfügig jünger. Bei Joose et al. lag das Durchschnittsalter bei den weiblichen Patienten bei 55,9 Jahren.[57] Katalinic et al. beschreiben ein Durchschnittsalter für Frauen von 54,9 Jahren, Buettner et al. ein Durchschnittsalter von 53,3 Jahren, welches exakt mit dem dieser Kohorte übereinstimmt.[60][19]

Bezüglich des signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiedes im Erkrankungsalter – das Durchschnittsalter der Frauen der gesamten Stichprobe war 4,7 Jahre geringer als das der Männer – fanden sich Analogien in der aktuellen Literatur. So beobachteten Carcaó et al. in ihrer Studie, dass in der Gruppe der über 50-Jährigen Teilnehmer 56,7% der Patienten Männer waren.[23] Katalanic et al. beschreiben in ihrer 1.784 Patienten umfassenden Studie ebenfalls ein signifikant höheres durchschnittliches Erkrankungsalter bei Männern (56,6 Jahre) als bei Frauen (54,9 Jahre).[60]

Es konnte bei diesem Patientenkollektiv bezogen auf das Patientenalter und die Geschlechtsverteilung innerhalb der Gruppen und im Vergleich der beiden Gruppen zueinander keine Abweichungen zur aktuellen vorliegenden Literatur festgestellt werden.

5.3.2. Primärtumorhistologie, Tumordicke nach Breslow und Primärtumorlokalisation

Das SSM war gruppenübergreifend mit 44% (n=88) das am häufigsten vorkommende Melanom des Patientenkollektivs. Hierunter wurde auch das SSM vom sekundär nodulären Typ subsumiert, das mit einer Anzahl von n=17 etwa 8,5% des Gesamtkollektivs ausmachte. Der zweithäufigste histologische Melanomtyp war das NMM mit 43%. Studien zur SLNB wie sie u.a. von Tiffet et al. und Scoggins et al. vorliegen, zeigen ebenfalls eine Häufung von SSM von 50% und 49% respektive.[101][94]

Willi et al. beobachteten in ihrer 210 Patienten umfassenden Studie über Risikofaktoren eines Frührezidivs beim malignen Melanom eine mit unserer Kohorte vergleichbare Häufigkeit und Rangfolge der histologischen Subtypen mit einem Anteil von 42,3% SSM und 32,9% NMM.[113] Arbeiten zur Epidemiologie des malignen Melanoms, wie sie beispielsweise von Garbe et al. und Joose et al. vorliegen, zeigen eine deutlichere Tendenz zugunsten des SSM mit einer Häufigkeit von 58,6% beziehungsweise 51,8%. [39][57] Chao et al. geben, bei einem Kollektiv von über 3.000 Patienten, die Inzidenz des SSM mit 43% und die des NMM von 23% an.[26]

Bei dem Vergleich mit epidemiologischen Daten ist zu beachten, dass die in dieser Studie untersuchte Kohorte selektiert wurde: es wurden naturgemäß nur Patienten in die Studie aufgenommen, bei denen vorher eine Indikation zur Wächterlymphknoten-Biopsie gestellt wurde. Mit zunehmender Tumordicke steigt auch der relative Anteil nodulärer Melanome.

Die Häufigkeiten der anderen histologischen Subtypen befanden sich im kleinen einstelligen Prozentbereich.[26] Auffällig ist der Unterschied der relativen Häufigkeit von LMM der hier teilnehmenden Kohorte im Vergleich zu den Daten in der Literatur, welche sowohl Garbe als auch Joose mit ca. 9% der Fälle angeben. In der hier vorliegenden Studienpopulation war das LMM mit nur knapp 1% vertreten. Die Häufigkeit, mit der das LMM auftritt, ist jedoch stark alterssensibel. Entsprechend der Altersverteilung findet sich bei Patienten im Alter zwischen 65 und 75 Jahren die höchste Inzidenz an Lentigo-maligna Melanomen.[36] Die verhältnismäßig geringe Anzahl an LMM der vorliegenden Studienkohorte lässt sich auf Selektionskriterien dieser Studie zurückführen, wonach lediglich Patienten mit einem Alter bis zu 79 Jahren eingeschlossen waren. Ein weiterer Grund, weswegen diese Kohorte eine geringere Häufigkeit von LMM aufwies, liegt vermutlich darin, dass das LMM überwiegend im Kopf-Hals-Bereich auftritt und aufgrund des protrahierten Wachstums eher selten größere Tumordicken erreicht. Weitere Ausschlusskriterien dieser Studie waren ein Auftreten des Primarius im Kopf-Hals-Bereich und eine Tumordicke, die geringer ist als 0,75 mm.

Die durchschnittliche Tumordicke des gesamten Patientenkollektivs betrug 2,41 mm (Gruppe A: 2,53 mm; Gruppe B: 2,29 mm), die mediane Tumordicke 1,70 mm. Morton et al. berichteten im Jahre 2006 über eine durchschnittliche Tumordicke von 1,98 mm und eine mediane Tumordicke von 1,80 mm bei 769 Patienten, die sich einer Wächterlymphknoten-Biopsie unterzogen hatten. Als Selektionskriterien dienten die Diagnose des malignen Melanoms mit einem Clark-Level III und einer Tumordicke von >1 mm oder Clark-Level 4/5 mit jedweder Tumordicke.[79] Auch Chao et al. beschreiben in ihrer Studie eine durchschnittliche Tumordicke von 2,25 mm und eine mediane Tumordicke von 1,65 mm.[26] Überdurchschnittlich häufig befand sich der Primärtumor bei den Männern der Gruppe A am Stamm (76,5%).

In Gruppe B jedoch entsprach der prozentuelle Anteil von 55,8% der am Stamm lokalisierten Primärtumoren den Daten epidemiologischer Arbeiten, wie z.B. mit 56,5% bei Buettner et al. [19] Der Unterschied, der sich hierbei ergab, ist einerseits auf die verhältnismäßig geringe Fallzahl unserer Kohorte zurückzuführen, andererseits vermutlich aber auch durch einen Selektionsbias, da Patienten mit axillär lokalisierten Sentinel-Lymphknoten aufgrund der vermeintlich besseren intraoperativen Darstellung durch die Doppelmarkierung eher der Gruppe A zugeordnet wurden.

In der hier eingeschlossenen Patientenkohorte waren die Primärtumoren bei den Frauen am häufigsten an den unteren Extremitäten lokalisiert, in Gruppe A bei 44,9% und in Gruppe B bei 53,2%. Der oben beschriebene Selektionsbias wirkt sich hier ebenfalls spiegelbildlich aus, da man vermutlich dazu neigte, den Patentblau-Farbstoff bei inguinal gelegenen Wächterlymphknoten eher zu verzichten. Vergleichbare Zahlen zur Primärtumorverteilung bei Frauen im Bereich der unteren Extremitäten liegen von Garbe et al. (42%) und Buettner et al. (42,7%) vor. [39][19]

Beim Vergleich der Primärtumor-Charakteristika mit der gängigen und aktuellen Literatur zeigt sich dieses Patientenkollektiv als repräsentativ sowohl in Bezug auf die Histologie des Primarius, als auch auf die Primärtumordicke und die anatomische Verteilung des Primärtumors.

5.3.3. Nuklearmedizinische SLN-Markierung

Insgesamt 140 der 239 nuklearmedizinisch markierten Bassins befanden sich axillär, gefolgt von 87 inguinal markierten Bassins. Dieser Befund findet sich auch bei Gershenwald et al., in deren Studie in absteigender Häufigkeit Markierungen axillär, inguinal und cervical beschrieben werden. Betrachtet man die Primärtumorlokalisationen in dieser Studie wird deutlich, dass der größte Teil der Primarien am Körperstamm in der Nähe der axillären Drainagegebiete lokalisiert waren (47%). In 51% der Fälle in Gruppe A und 39% der Fälle in Gruppe B traf dies auch auf die von uns untersuchten Patienten zu. Interessant scheint auch die Tatsache, dass trotz der verstärkten Häufung von axillär markierten Bassins die regionsspezifischen Detektionsraten sich umgekehrt verhielten. So konnte sowohl in dieser, als auch in der Studie von Gershenwald et al. die höchste SLN-Detektionsrate inguinal (100%, 98% bei Gershenwald et al.) erreicht werden. Auch dies ist den anatomischen Gegebenheiten der Leistenregion geschuldet, in der Lymphknoten relativ oberflächlich liegen. [41]

Eine Markierungsrate von 1,93 (Gruppe A) respektive 1,65 (Gruppe B) SLN pro Patient konnte durch entsprechende Nachweise in anderen Studien als vergleichbar eingestuft werden, so wie denen von Harlow et al. (mit SLN-Markierungsrate von 1,96), Kretschmer et

al. (1,8 pro Patient) und Veenstra et al. (2,4 pro Patient).[48][65][106] Des Weiteren konnten von den 358 nuklearmedizinisch markierten SLN pro Patient durchschnittlich 1,77 SLN in Gruppe A und 1,72 SLN in Gruppe B entnommen werden.

5.3.4. Lymphknoten-Status

Als Sentinel-Lymphknoten wurden Lymphknoten bezeichnet, die, wie bereits im Abschnitt 2 ausführlich erörtert wurde, die allgemein gültigen wissenschaftlichen Kriterien eines SLN erfüllten.

Lymphknoten, die durch ihre anatomische Lage in enger Beziehung zu Sentinel-Lymphknoten standen, in präoperativen sonographischen Kontrollen Auffälligkeiten aufwiesen und deren radioaktive Zählrate weniger als 20% des Lymphknotens mit der höchsten Zählrate betrug, wurden im Einklang mit entsprechenden Empfehlungen aus der Literatur unter anderem von Albertini et al. und Mariani et al. als Non-Sentinel-Lymphknoten bezeichnet.[72][1]

5.3.4.1. SLN-Status

Insgesamt konnten bei unseren 200 Patienten 349 Sentinel-Lymphknoten geborgen werden – 177 SLN in Gruppe A und 172 in Gruppe B. In Gruppe A wurden bei 21% und in Gruppe B bei 26% der Patienten ein positiver SLN-Status diagnostiziert. Die Zahlen befinden sich im Einklang mit denen anderer Studien, wie z. B. der von Veenstra et al. (23% der Patienten mit positiven SLN) und Pfützner et al. (19,5%).[106][81] Andere Autoren berichten von tendenziell höheren Raten an positiven Sentinel-Lymphknoten, die über 20% weiter hinausgehen, so z. B. bei Kretschmer et al. (29,5%) und Bartolomei et al. (26%).[65][11]

54 der in dieser Studie entnommenen 349 Sentinel-Lymphknoten wurden als histologisch positiv bewertet. Dies entspricht einem Anteil von 15,5% an positiven SLN (14,7% in Gruppe A und 16,3% in Gruppe B) bezogen auf die exstirpierten Lymphknoten. Ähnliche Zahlen berichteten auch beispielsweise Bostick et al., die eine Positivitätsrate von 11,8% bei 144 exstirpierten SLN ausweisen konnten und Morton et al. mit einer Positivitätsrate von 18% bei 259 entnommenen SLN.[17][75]

Die in der vorliegenden Studie ermittelten Positivitätsraten korrelieren mit aktuellen Studien wie beispielsweise der von Morton et al. und belegen die Repräsentativität der Stichprobe und die Qualität der Sentinel-Prozedur (s. o.).

5.3.4.2. NLN und NLN-Status

In der aktuellen Literatur existiert derzeit kein Konsens über eine einheitliche Definition eines Non-Sentinel-Lymphknotens.

Autoren wie Gershenwald et al. beschreiben NLN als Lymphknoten in regionalen Bassins, in die die Lymphe des Primarius nicht unmittelbar als erstes drainiert. Cascinelli et al. postulieren, dass es sich bei NLN um Lymphknoten handelt, die im Rahmen einer kompletten Lymphadenektomie entfernt werden.**[42][24]**

Mangels einheitlicher Definition des Terminus „NLN“ in der Literatur kann diese Stichprobe nicht mit anderen Studien verglichen werden. Ebenso ließen sich aufgrund der insgesamt geringen Menge an exstirpierten NLN innerhalb des Patientenkollektivs keine Signifikanzen zwischen beiden Gruppen berechnen.

Im Hinblick auf die Epidemiologie des Patientenkollektivs und die Primärtumorcharakteristika lassen sich keine Abweichungen der hier vorliegenden Studie zu aktuellen Studien feststellen. Beim Vergleich der nuklearmedizinischen SLN-Markierung, sowie des histologischen Status der exstirpierten SLN und der Nachbeobachtungszeit lassen sich Parallelen zur gängigen Literatur ziehen, welche die Repräsentativität dieser Arbeit unterstreichen.

5.4. Diskussion der Ergebnisse

5.4.1. Korrelation der Histologie mit der Radioaktivität und der Färbung

Es ließ sich keine Korrelation von Radioaktivität und histologischem Befund in beiden Gruppen darstellen, da kein signifikanter Unterschied bei der Radioaktivität positiver und negativer SLN bestand. Wie bei Pfützner et al. lässt sich zwar ein Trend ablesen, wonach die SLN mit der höchsten Impuls-Rate ein positives immunhistologisches Ergebnis aufweisen würde.

Ein signifikanter Unterschied ließ sich in dieser Untersuchung aber ebenfalls nicht ableiten. Im Gegenteil beschreiben McMasters et al., dass es in 13,1% der Fälle zu einer falsch negativen Auswertung der befallenen und markierten Bassins kommen würde, wenn man lediglich den SLN mit der höchsten Radioaktivität entnehmen würde.**[81][73]**

In dieser Studie zeigte sich eine positive Korrelation im Zusammenhang mit der Färbung und einem positiven histologischen Ergebnis der exstirpierten SLN. Im Vergleich der intensiv gefärbten SLN zu den schwach und nicht gefärbten SLN war ein leichter Trend zugunsten der intensiv gefärbten SLN ($p=0,068$) sichtbar. Ein Vorteil für die Patentblau-Färbung im Bezug auf die Detektionsrate konnte hieraus jedoch nicht abgeleitet werden, da sämtliche

dieser als positiv getesteten SLN auch durch die Gammadetektion identifiziert werden konnten. In der Studie von Kretschmer et al. lassen sich diese Ergebnisse belegen.[65] Auf der anderen Seite konnte jedoch bei insgesamt drei Patienten der Gruppe A beobachtet werden, dass jeweils ein immunhistologisch positiver Lymphknoten nicht durch PB angefärbt werden konnte, sich jedoch mit Hilfe der Gammakamera und der Radionuklidmarkierung detektieren ließ. Dies entspricht einer Fehlerquote von 3%. Kretschmer et al. beschrieben in ihrer Studie, dass bei 7 von 247 (2,8%) an der Studie teilgenommenen Patienten mit positivem SLN-Befund keine Anfärbung mit Farbstoff gelang.[65] Von den 26 immunhistologisch als positiv bewerteten SLN der Gruppe A ließen sich drei Lymphknoten nicht mit PB anfärben, was einer Rate von 11,5% entspricht. Auch Pfützner et al. beschreiben, dass sich 9% der positiven SLN einer Markierung mit PB entziehen.[81] In Übereinstimmung mit der Publikation von Bines et al. zur Wertigkeit der Blaufärbung im Rahmen der SLNB bei Patientinnen mit Mammakarzinom konnte bei einer Rate an positiven SLN von 14,7% in Gruppe A (mit Patentblau-Färbung) versus 16,3% in Gruppe B (ohne Patentblau-Färbung) in der hier eingeschlossenen Stichprobe ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden.[14]

5.4.2. Einfluss der Vitalfärbung mit Patentblau auf die Detektionsrate

Alle vorliegenden Studien beschreiben eine deutliche Steigerung in Bezug auf die Detektionsrate von SLN nach Einführung der Doppelmarkierung mit radioaktiven Kolloiden, jedoch sind dies Studien, die eine Doppelmarkierung mit der alleinigen Anwendung von intraoperativ applizierten Farbstoffen vergleichen.[65][76]

Arbeiten, welche die Doppelmarkierung einer alleinigen Nutzung von radioaktiven Kolloiden gegenüberstellen, existieren derzeit nicht.

Eine Tendenz, wonach die Doppelmarkierung mit PB zu einer signifikant höheren Detektionsrate im Vergleich zur einfachen Anwendung des Radiopharmakons führen würde, konnte in dieser Studie nicht festgestellt werden.

Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die Farbintensität mit der Intensität der radioaktiven Strahlung in unmittelbarem Zusammenhang steht. Eine intensivere Blaufärbung steht in unmittelbarem Zusammenhang mit einer intensiveren Radioaktivität sowohl der SLN als auch der NLN.

5.4.3. Einfluss der Vitalfärbung mit Patentblau auf die Prognose

Da die Detektionsraten, die Raten positiver SLN und die Raten SLN-positiver Patienten sich nicht signifikant unterscheiden, ist letztlich auch kein Unterschied in der Prognose zwischen

den Patientengruppen zu erwarten. Vergleicht man jedoch die beiden Gruppen dieser Studie in Bezug auf rezidiv- und fernmetastasenfreies Überleben lassen sich Tendenzen zu Gunsten der Gruppe A feststellen, bei der PB zusätzlich zur Gamma-Detektion eingesetzt wurde. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte zwar nicht festgestellt werden. Aufgrund der kleinen Fallzahl und der fehlenden Randomisierung ist aber zu überdenken, ob diese Befunde an größeren Kollektiven und prospektiv-randomisiert erhoben und überprüft werden sollten.

Im Verlauf dieser Nachbeobachtungszeit konnten bei 1,3% (einem von 79 mit initial negativem SLN-Status) der Patienten der Gruppe A — d.h. Bassins aus denen zunächst histologisch negative SLN exstirpiert wurden und in denen sich im weiteren Verlauf der Nachbeobachtungszeit eine Metastasierung zeigte — festgestellt werden. Bei keinem der Patienten aus Gruppe B konnte ein falsch-negativer Sentinel-Lymphknotenstatus diagnostiziert werden.

Bei einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 28 Monaten berichten Veenstra et al. über eine 1,8%ige Rate (10 von 544 Patienten mit zunächst negativem SLN-Status) als falsch-negativ eingestufte Patienten. Gleichzeitig jedoch beschrieben sie eine Lernkurve in Zusammenhang mit der Durchführung der Sentinel-Lymphknotenbiopsie in kombinierter Technik. Ereigneten sich in den ersten Jahren nach Einführung der SLN-Biopsie die häufigsten Fälle von falsch-negativen Biopsien, konnte im Verlauf der Jahre ein sukzessiver Rückgang verzeichnet werden.**[106]** Vuylsteke et al. beschreiben eine weitaus höhere falsch-negative Rate von 2,4% (vier von 168 Patienten mit zunächst negativem SLN-Status) bei jedoch längerer medianer Nachbeobachtungszeit von 72 Monaten.**[109]**

Jones et al. wiederum legen in ihrer Arbeit bei einer medianen Nachbeobachtungszeit von 23 Monaten bei 21 von 515 Patienten mit negativem SLN-Status eine 4%ige Rate falsch-negativer Biopsien vor.**[56]**

Die hier vorliegende Untersuchung hat keine Unterschiede in den Gruppen mit oder ohne Anwendung von Patentblau bezüglich der Rate falsch-negativer SLN-Biopsien zeigen können. So lässt sich zusammenfassend im Vergleich der gängigen Literatur sowie auf Grundlage der dargestellten Ergebnisse, kein signifikanter Vorteil der Doppelmarkierung in Bezug auf die Rate an falsch-negativen Biopsien darstellen.

Im gesamten Nachbeobachtungszeitraum waren insgesamt 20 Todesfälle (7 in Gruppe A, 13 in Gruppe B) zu verzeichnen, wobei sich die meisten Todesfälle in den ersten 30 postoperativen Monaten ereigneten. Zum Vergleich beschreiben Morton et al. eine Mortalitätsrate von 12,5% nach insgesamt fünf Jahren nach Sentinel-Lymphknotenbiopsie mit einer Doppelmarkierung wie wir es in Gruppe A durchgeführt haben.**[79]**

Unterschiede im Gesamtüberleben ließen sich auch durch Belege mit der entsprechenden Literatur in der untersuchten Kohorte nicht skizzieren.

5.6. Zusammenfassung

Das maligne Melanom gilt als einer der häufigsten Tumortypen weltweit und metastasiert frühzeitig lymphogen. Die komplette Lymphadenektomie galt bis in die 1990er Jahre hinein als adjuvante operative Maßnahme bei Hochrisikomelanomen. Mit den Jahren hat sich die Sentinel-Lymphknotenbiopsie zunehmend als deutlich geringer invasiver, diagnostischer Standard im Rahmen des Primär-Stagings bei Melanomen mit einer Tumordicke ab 1mm und/oder positivem Mitoseindex durchgesetzt.

Als Sentinel-Lymphknoten (auch Wächter-Lymphknoten genannt) werden Lymphknoten bezeichnet, die die Lymphe der Primärtumorregion primär filtern und in denen sich in der ersten Phase der lymphogenen Metastasierung Melanommetastasen bilden können. Da beim malignen Melanom bereits in dieser Frühphase Mikrometastasen in den betroffenen SLN entstanden sein können, werden nur entsprechend die Patienten einer selektiven Lymphadenektomie unterzogen, deren Sentinel-Lymphknoten-Status sich als positiv herausstellt. So werden unnötige ausgedehnte Eingriffe mit einhergehenden Komorbiditäten verhindert. In den vergangenen Jahren und Jahrzehnten hat sich die durch Morton et al. initiierte SLN-Biopsie zunächst mit alleiniger Anwendung eines blauen Farbstoffes, später mit Doppelmarkierung unter Verwendung eines radioaktiven Kolloides und zusätzlicher Farbstoffmarkierung durchgesetzt. Die alleinige Anwendung des Farbstoffes zur intraoperativen SLN-Markierung hat sich in zurückliegenden vergleichenden Studien im Vergleich zur Doppelmarkierung als zu unsicher erwiesen, da hierdurch eine zu hohe Anzahl an Wächter-Lymphknoten unberücksichtigt geblieben ist.

Die Verwendung des Farbstoffes wird zunehmend kontrovers diskutiert, da eine große Anzahl von Autoren über unerwünschte Nebenwirkungen (in Einzelfällen über lebensbedrohliche anaphylaktische Reaktionen und auch über dauerhafte Diskolorationen) bei der Anwendung von PB berichteten.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, die Wertigkeit der zusätzlichen Patentblau-Farbstoffmarkierung bei der Sentinel-Lymphknotenbiopsie mit üblicher Technetium-Markierung zu evaluieren.

Es konnten in einer repräsentativen Stichprobe keine signifikanten Vorteile im Hinblick auf den zusätzlichen Einsatz des Farbstoffes in Bezug auf die Detektionsrate, die Anzahl exstirpierter positiver Sentinel-Lymphknoten, den Sentinel-Status und die Rate falsch-negativer SLN festgestellt werden.

Auf der anderen Seite ließ sich in dieser Studie, bis auf eine über 12 Monate währende Diskoloration, auch kein Nachweis der postulierten unerwünschten Nebenwirkungen erbringen. Insbesondere traten keinerlei anaphylaktische Reaktionen auf.

Zwischen beiden Vergleichsgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede des rezidivfreien, fernmetastasenfreien und Gesamtüberlebens festgestellt werden. Trends zu Gunsten des kombinierten Einsatzes von Farbstoff und Radiokolloid ließen sich für das rezidivfreie und fernmetastasenfreie Überleben zeigen. Ob und wie sich die Anwendung von PB auf die Rezidivfreiheit genau auswirkt, ist nicht bekannt. Eine pharmakoimmunologische Schutzwirkung des Patentblau-Farbstoffes über noch unbekannte Mechanismen kann propagiert werden. Dieser Befund sollte Grundlage für weitere Studien sein. Hierzu werden größere Fallzahlen, eine Randomisierung und nach Möglichkeit ein multizentrischer Ansatz benötigt, um valide Daten zu generieren.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Albertini J, Cruse CW, Rapaport D, Wells K, Ross M, DeConti R, Berman CG, Jared K, Messina J, Lyman G, Glass F, Fenske N, Reintgen DS (1996) Intraoperative Radiolymphoscintigraphy Improves Sentinel Lymph Node Identification for Patients with Melanoma. *Ann Surg* 223(2):217-224
- [2] Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN (1993) Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 2 (5):303-308
- [3] Ak I, Stokkel MPM, Bergmann W, Pauwels EKJ (2000) Cutaneous malignant melanoma: clinical aspects, imaging modalities and treatment. *Eur J Nucl Med* 27 (4):447-458
- [4] Azzola MF, Shaw HM, Thompson JF, Soong SJ, Scolyer RA, Watson GF, Colman MH, Zhang Y (2003) Tumor mitotic rate is a more powerful indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma. *Cancer* 97(6):1488-1498
- [5] Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A, Jr., Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF (2001) Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 19 (16):3635 – 3648
- [6] Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, Buzaid AC, Cochran AJ, Coit DG, Ding S, Eggermont AM, Flaherty KT, Gimotty PA, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MC Jr., Morton DL, Ross MJ, Sober AJ, Sondak VK (2009) Final Version of AJCC Melanoma Staging and Classification. *J Clin Oncol* 27(36):6199-6206
- [7] Balch CM, Mihm MC, Gershenwald JV, Soong SJ (2010) The Revised Melanoma Staging System and the Impact of Mitotic Rate. *The Melanoma Letter* 28.3

- [8] Barghese P, Abdel-Rahman AT, Akberali S, Mostafa A, Gattuso JM, Carpenter R (2008) Methylene Blue Dye – A Safe and Effective Alternative for Sentinel Lymph Node Localization. *The Breast J* 14(1):61-67
- [9] Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M (1996) Predicting Five-Year Outcome for Patients with Cutaneous Melanoma in a Population-Based Study. *Cancer* Vol.78 (3):427-432
- [10] Barthelmes L, Goyal A, Newcombe RG, McNeill F, Mansel RE; NEW START and ALMANAC study groups (2010) Adverse reaction to patent blue V dye – The NEW START and ALMANAC experience. *Eur J Surg Oncol.* 36 (4):399-403
- [11] Bartolomei M, Testori A, Chinol M, Gennari R, De Cicco C, Leonardi L, Zoboli S, Paganelli G (1998) Sentinel node localization in cutaneous melanoma: lymphoscintigraphy with colloids and antibody fragments versus blue dye mapping. *Eur J Nucl Med* 25(11):1489-1494
- [12] Bergkvist L, Frisell J, Liljegren G, Celebioglu F, Damm S, Thörn M (2001) Multicenter study of detection and false-negative rates in sentinel node biopsy for breast cancer. *Br J Surg* 88(12):1644-1648
- [13] Bézu C, Coutant C, Salengro A, Darai E, Rouzier R, Uzan S (2011) Review Anaphylactic response to blue dye during sentinel lymph node biopsy. *Surg Oncol* 20(1):55-59
- [14] Bines S, Kopkash K, Ali A, Fogg L, Wool N (2008) The use of radioisotope combined with isosulfan blue dye is not superior to radioisotope alone for the identification of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer. *Surgery* 144(4):606-610
- [15] Blum A, Schlagenhauff B, Stroebel W, Breuninger H, Rassner G, Garbe C (2000) Ultrasound examination of regional lymph nodes significantly improves early detection of locoregional metastases during the follow-up of patients with cutaneous melanoma: results of a prospective study of 1288 patients. *Cancer* 88 (11):2534-2539
- [16] Bostick P, Essner R, Sarantou T, Kelley M, Glass E, Foshag L, Stern S, Morton D. (1997) Intraoperative Lymphatic Mapping for Early-Stage Melanoma of the Head and Neck. *Am J Surg* 174(5):536-539

- [17] Bostick P, Essner R, Glass E, Kelly M, Sarantou T, Foshag LJ, Qi K, Morton D (1999) Comparison of Blue Dye and Probe-Assisted Intraoperative Lymphatic Mapping in melanoma to Identify Sentinel Nodes in 100 Lymphatic Basins. *Arch Surg* 134(1):43-49
- [18] Breitbar EW, Waldmann A, Nolte S, Capellaro M, Greinert R, Volkmer B, Katalinic A (2012) Systemic skin cancer screening in Northern Germany. *J Am Acad Dermatol* 66(2):201-211
- [19] Buettner PG, Leitner U, Eigentler TK, Grabe C (2005). Development of Prognostic Factors and Survival in Cutaneous Melanoma over 25 Years: An Analysis of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *Cancer* 103 (3):616-624
- [20] Buzaid AC, Anderson CM (2000) The changing prognosis of melanoma. *Curr Oncol Rep* 2 (4):322-328
- [21] Cabanas RM (1977). An approach of the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 39 (2):456-466
- [22] Cammarota T, Pinto F, Magliaro A, Sarno A. (1998) Current uses of diagnostic high-frequency US in dermatology. *Eur J Radiol* 27 (2):215–223
- [23] Carcaó C, Marone U, Botti G, Celentano E, Lastoria S, Mozillo N (2006) Age as predictor in patients with cutaneous melanoma submitted to sentinel lymph node biopsy. *Eur J Surg Oncol* 32(9):970-973
- [24] Cascinelli N, Bombardieri E, Bufalino R, Camerini T, Carbone A, Clemente C, Lenisa L, Mascheroni L, Maurichi A, Panacchioli E, Patuzzo R, Santinami M, Tragni G (2006) Sentinel and Non Sentinel Node Status in Stage IB and II Melanoma Patients: Two-Step Prognostic Indicators of Survival. *J Clin Oncol* 24(27):4464-4471

- [25] Chang AE, Karnell LH, Menck HR (1998) The National Cancer Data Base Report on Cutaneous and Noncutaneous Melanoma. *Cancer* 83 (8):1664-1678
- [26] Chao C, Martin RCG, Ross MI, Reintgen DS, Edwards MJ, Noyes RD, Hagendoorn LJ, Stromberg AJ, McMasters KM (2004) Correlation Between Prognostic Factors and Increasing Age in Melanoma. *Ann Surg Oncol* Vol 11(3):259 – 264
- [27] de Oliveira Filho RS, da Silva AM, Hochman B, de Oliveira RL, Arcuschin L, Wagner J, Yamaga LY, Ferreira LM (2006) Vital dye is enough for inguinal sentinel lymph node biopsy in melanoma patients. *Acta Cir Bras* 21(1):12-15
- [28] Elwood JM, Jopson J (1997) Melanoma and sun exposure: An overview of published studies, *Int. J. Cancer* 73 (2):198 – 203
- [29] Fattahi AS, Tavassoli A, Rohbakhshfar O, Sadeghi R, Abdollahi A, Forghani MN (2014) Can methylene blue dye be used as an alternative to patent blue dye to find the sentinel node in breast cancer surgery? *J Res Med Sci* 19(10):918-922
- [30] Flaherty K, Robert C, Hersey P, Nathan P, Garbe C, Milhem M, Demidov LV, Hassel JC, Rutkowski P, Mohr P, Dummer R, Trefzer U, Larkin JMG, Utikal J, Dreno B, Nyakas M, Middleton MR, Becker JC, Casey M, Sherman LJ, Wu FS, Ouellet D, Martin AM, Patel K, Schadendorf D (2012) Improved Survival with MEK-Inhibition in BRAF-Mutated Melanoma. *N Eng J Med*; 367:107-114
- [31] Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW (1985) Early detection of malignant melanoma the role of physical examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin* 35 (3):130-151
- [32] Garbe C, Büttner P, Weiß J, Soyer HP, Stocker U, Krüger S, Roser M, Weckbecker J, Panizzon R, Bahmer F, Tilgen W, (1994) Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society, *J Invest Dermatol* 102 (5):695 – 699

- [33] Garbe C (1995) Risikofaktoren für die Entwicklung maligner Melanome und Identifikation von Risikopersonen im deutschsprachigen Raum. *Hautarzt* 46(5):309-314
- [34] Garbe C, Blum A (2001) Epidemiology of Cutaneous Melanoma in Germany and Worldwide, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14 (5):280 – 290
- [35] Garbe C, Schadendorf D (2003) Surveillance and Follow-up Examinations in Cutaneous Melanoma. *Onkologie* 26 (3):241-246
- [36] Garbe C, Lasithiotakis KG (2006) Management des Melanoms. Springer Verlag, Berlin Heidelberg
- [37] Garbe C, Schadendorf D, Stolz W, Volkenandt M, Reinhold U, Kortmann RD, Kettelhack C, Frerich B, Keilholz U, Dummer R, Sebastian G, Tilgen W, Schuler G, Mackensen A, Kaufmann R, Hausschild A (2008). Kurzleitlinie – Malignes Melanom der Haut. *J Dtsch Dermatol Ges* 6 (s.1):9-15
- [38] Garbe C (2008) Früherkennung und Primärprävention von Hautkrebs. *Der Onkologe* 14 (2):156-163
- [39] Garbe C, Leitner U (2009) Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol.* 27 (1):3-9
- [40] Garbe C., Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Spatz A, Grob JJ, Malvey J, Newton-Bishop J, Stratigos A, Pehamberger A, Eggermont AM (2012) Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline – Update 2012. *Eur J Cancer* 48(15):2375-2390

- [41] Gershenwald JF, Tsend CH, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Bouvet M, Lee JJ, Ross MI (1998) Improved sentinel lymph node localisation in patients with primary melanoma with the use of radiolabeled colloid. *Surgery* 124(2):203-210
- [42] Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng C, Lee JJ, Balch CM, Reintgen DS, Ross MI (1999) Multi-Institutional Melanoma Lymphatic Mapping Experience: The Prognostic Value of, Sentinel Lymph Node Status in 612 Stage I or II Melanoma Patients. *J Clin Oncol* 17(3):976-983
- [43] Gipponi M, Bassetti C, Canavese G, Catturich A, Di Somma C, Vecchio C, Nicoló G, Schenone F, Tomei D, Cafiero F (2004) Sentinel Lymph Node as a New Marker for Therapeutic Planning in Breast Cancer Patients. *J Surg Oncol* 85 (3):102-111
- [44] Glass LF, Messina JL, Cruse W, Wells K, Rapaport D, Miliotes G, Berman C, Reintgen D, Fenske NA (1996) The use of intraoperative radiolymphoscintigraphy for sentinel node biopsy in patients with malignant melanoma. *Dermatol Surg* 22:715-720
- [45] Goldman AM, Tucker MA (1995) Genetic epidemiology of familial melanoma *Dermatol Clin.* 13(3): 605 – 612
- [46] Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH (1960) Observation on a „Sentinel Node“ in Cancer of the Parotid. *Cancer Vol.* 13: 77-78
- [47] Grob JJ, Dreno B, de la Salmoniere P, Delaunay M, Cuppisol D, Guillot B, Souteyrand P, Sassolas B, Cesarini JP, Lionnet S, Lok C, Chastang C, Bonerandi JJ (1998) Randomised trial of interferon alpha-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically detectable node metastases. *Lancet* 351(9120):1905-1910
- [48] Harlow SP, Krag DN, Ashikaga T, Weaver DL, Meijer SJ, Loggie BW, Tanabe KK, Whitworth P, Kuhn JrJ, Kusminsky R, Carp NZ, Gadd M, Rawlings Jr M, Slingluff Jr CL (2011) Gamma probe guided biopsy of the sentinel node in malignant melanoma: a multicentre study. *Melanoma Res* 11(1):45-55

- [49] Hauschild A, Dummer R, Garbe C (2003) Kongressbericht: Evidenzbasierte Diagnostik und Therapie kutaner Neoplasien. Dtsch Arztebl 26: A-1813/B-1509/C-1417
- [50] Hill GJ, Moss SE, Golomb FM, Grage TB, Fletcher WS, Minton JP, Kremenz ET (1981) DTIC and combination therapy for melanoma III. Cancer 47(11):2556-2562
- [51] Hodi S, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, Gonzalez R, Robert C, Schadendorf D, Hassel JC, Akerley W, van den Eertwegh AJM, Lutzky J, Lorigan P, Vaubel JM, Linette GP, Hogg D, Ottensmeier CH, Lebbé C, Peschel C, Quirt I, Clark JI, Wolchok JD, Weber JS, Tian J, Yellin MJ, Nichol GM, Hoos A, Urba WJ (2010) Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. N Eng J Med 363:711-723
- [52] Hoffmann K, Jung J, el Gammal S, Altmeyer P. (1992) Malignant melanoma in 20-MHz B scan sonography. Dermatology 185 (1):49-55
- [53] Hunting AS, Nopp A, Johansson SGO , Andersen F, Wilhelmsen V, Guttormsen AB (2010) Anaphylaxis to Patent Blue V. I. Clinical aspects. Allergy 65 (1):117-123
- [54] Jäckel A, Deichmann M, Waldmann V, Bock M, Näher H (1999) S-100 beta protein in serum, a tumor marker in malignant melanoma-- current state of knowledge and clinical experience. Hautarzt 50(4): 250-256
- [55] Jeudy G, Louvier N, Rapennes T, Goujon E, Fraisse J, Dalac-Rat S, Collet E (2008) Immediate patent blue-induced hypersensitivity during sentinel node detection: The value of cutaneous tests. Ann Dermatol Venereol. 135(6-7):461-465
- [56] Jones EL, Jones TS, Pearlman NW, Gao D, Stovall R, Gajdos C, Kounalakis N, Gonzales R, Lewis KD, Robinson WA, McCarter MD (2013) Long-term Follow-up on Survival of Patients Following a Recurrence of Melanoma After a Negative Sentinel Lymph Node Biopsy Result. JAMA Surg. 148(5): 456-461

- [57] Joose A, de Vries E, Eckel R, Nijsten T, Eggermont AMM, Hölzel D, Coebergh JWW, Engel J (2011) Gender Differences in Melanoma Survival: Female Patients Have a Decreased Risk of Metastasis. *J Invest Dermatol* 131(3): 719-72
- [58] Kärnell R, von Schoultz E, Hansson LO, Nilsson B, Årstrand K, Kågedal B (1997) S100B protein, 5-S-cysteinyl-dopa and 6-hydroxy-5-methoxyindole-2-carboxylic acid as biochemical markers for survival prognosis in patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 7(5):393-399
- [59] Kapteijn BAE, Nieweg OE, Liem I, Mooi WJ, Balm AJM, Muller SH, Peterse JL, Olmos RAV, Hoefnagel CA, Kroon BBR (1997) Localizing the Sentinel Node in Cutaneous Melanoma: Gamma Probe Detection Versus Blue Dye. *Ann Surg Oncol* Vol 4(2):156-160
- [60] Katalinic A, Kunze U, Schäfer T (2003) Epidemiology of cutaneous melanoma and non-melanoma skin cancer in Schleswig-Holstein, Germany: incidence, clinical subtypes, tumor stages and localisation (epidemiology of skin cancer). *Br J Dermatol* 149(6):1200 – 1206
- [61] Keilholz U, Tilgen W, Hohenberger W (2003) Systemische Therapie des metastasierten Melanoms: Ergebnisse randomisierter Studien der letzten zehn Jahre. *Dtsch Arztebl* 100(16): A1054-1064
- [62] Keller B, Yawalkar N, Pichler C, Braathen LR, Hunger RE (2007) Hypersensitivity reaction against patent blue during sentinel lymph node removal in three melanoma patients. *Am J Surg* 193(1):122-124
- [63] Kesmodel SB, Karakousis GC, Terhune KP, Canter RJ, Wahl P, Gimotty P, Guerry D, Fraker DL, Czerniecki BJ, Spitz FR (2004) Mitotic rate as a predictor for sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol* 11:6
- [64] Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD, Canter RJ, Lewis RT, Wahl PM, Terhune KP, Alavi A, Elder DE, Ming ME, Guerry D, Gimotty PA, Fraker DL, Czerniecki BJ,

- Spitz FR (2005) Mitotic rate as a predictor of sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol* 12(6):449-458
- [65] Kretschmer L, Peeters S, Beckmann I, Thoms KM, Mitteldorf C, Emmert S, Sahlmann CO, Bertsch HP, Neumann C, Meller J (2005) Intraoperative detection of sentinel lymph nodes in cutaneous malignant melanoma – blue dye alone versus blue dye plus gamma-detection. *J Dtsch Dermatol Ges* 3(8):615-622
- [66] Kretschmer L, Thoms KM, Peeters S, Haenssle H, Bertsch HP, Emmert S (2008) Postoperative morbidity of lymph node excision for cutaneous melanoma – sentinel lymphonodectomy versus complete regional lymph node dissection. *Melanoma Res* 18(1):16-21
- [67] Kretschmer L, Starz H, Thoms KM, Satzger I, Völker B, Jung K, Mitteldorf C, Bader C, Siedlecki K, Kapp A, Bertsch HP, Gutzmer R (2011) Age as a key factor influencing metastasizing patterns and disease-specific survival after sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma. *Int J Cancer* 129 (6):1435-1442
- [68] Kuehn T, Vogl FD, Helms G, Pueckler SV, Schirrmester H, Strueber R, Koretz K, Kreienberg R (2004) Sentinel-node biopsy for axillary staging in breast cancer: results from a large prospective German multi-institutional trial. *Eur J Surg Oncol* 30 (3):252-259
- [69] Leiter U, Buettner PG, Eigentler TK, Forschner A, Meier F, Garbe C (2010) Is detection of melanoma during surveillance in an early phase of development associated with a survival benefit? *Melanoma Res.* 20(3):240-246
- [70] Leitlinienprogramm Onkologie –Malignes Melanom S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms. Version 1.1.Februar 2013. AWMF Register Nummer: 032 0240L
- [71] Lens MB, Dawes M (2004) Global perspectives of contemporary epidemiological trends of cutaneous malignant melanoma, *Br J Dermatol.* 150 (2):179-185

- [72] Mariani G, Gipponi M, Moresco L, Villa G, Bartolomei M, Mazzarol G, Bagnara MC, Romanini A, Cafiero F, Paganelli G, Strauss W (2002) Radioguided Sentinel Lymph Node Biopsy in Malignant Cutaneous Melanoma. *J Nucl Med* 43 (6):811-827
- [73] McMasters KM, Reintgen DS, Ross MI, Wong SL, Gershenwald JE, Krag DN, Noyes RD, Viar V, Cerrito PB, Edwards MJ (2001) Sentinel Lymph Node Biopsy for Melanoma: How Many Radioactive Nodes Should be Removed? *Annals of Surgical Oncology* 8(3):192-197
- [74] Möhrle M, Schippert W, Rassner G, Garbe C, Breuninger H (2004). Is Sentinel Lymph Node Biopsy of Therapeutic Relevance for Melanoma? *Dermatology* 209 (1):5-13
- [75] Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ (1992) Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 127(4):392-399
- [76] Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ, (1999) Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma. A Multicenter Trial. *Ann Surg* 230(4): 453-465
- [77] Morton DL, Hoon DSB, Cochran AJ, Turner RR, Essner R, Takeuchi H, Wanek LA, Glass E, Foshag LJ, Hsueh EC, Bilchik AJ, Elashoff D, Elashoff R (2003) Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma Therapeutic Utility and Implications of Nodal Microanatomy and Molecular Staging for Improving the Accuracy of Detection of Nodal Micrometastases. *Ann Surg* 238(4):538-550
- [78] Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, Elashoff R, Essner R, Glass EC, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Wang H (2005) Sentinel Node Biopsy for Early-Stage melanoma. Accuracy and Morbidity in MSLT-I, an International Multicenter Trial. *Ann Surg* 242(3):302-311

- [79] Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Glass EC, Wang HJ (2006) Sentinel – Node Biopsy or Nodal Observation in Melanoma. *N Engl J Med* 355:1307 – 1317
- [80] Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, Kofler R, Binder M, Mischer P, Pachinger W, Auböck J, Fritsch P, Kerl H, Wolff K (1998) Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 16 (4):1425-1429
- [81] Pfützner W, Kunte C, Weiss M, Flaig MI, Konz B (2006) Intraoperative Markierung von Sentinel-Lymphknoten bei kombinierter Anwendung von Vitalfärbung und Radiotracer – Ergebnisse bei Sentinel-Lymphknoten-positiven Patienten. *J Dtsch Dermatol Ges* 4(3):229-235
- [82] Pinto F, Lencioni R, Maggliaro A, Nardini V, Armillotta N, Bartolozzi C. (1997) High frequency US preoperative assessment in cutaneous malignant melanoma. *Radiology* 205:1188
- [83] Rager EL, Bridgeford EP, Ollila DW (2005) Cutaneous Melanoma: Update on Prevention, Screening, Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physican* 72 (2):269-276
- [84] Rassner G, Steinert U, (2009) *Dermatologie Lehrbuch und Atlas*, 9. Auflage Elsevier, München
- [85] Rees JL, (2000) The Melanocortin 1 Receptor: More than just red hair. *Pigment Cell Res* 13 (3):135-140
- [86] Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, Daud A, Carlino MS, McNeil C, Lotem M, Larkin J, Lorigan P, Neyns B, Blank CU, Hamid O, Mateus C, Shapira-Frommer R, Kosh M, Zhou H, Ibrahim N, Ebbinghaus S, Ribas A (2015)

- Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Eng J Med* April 19, 2015
- [87] Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, Lichinitser M, Dummer R, Grange F, Mortier L, Chiarion-Sileni V, Drucis K, Krajsova I, Hauschild A, Lorigan P, Wolter P, Long G, Flaherty K, Nathan P, Ribas A, Martin AM, Sun P, Crist W, Legos J, Rubin SD, Little SD, Schadendorf D (2015) Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib. *N Eng J Med*; 372:30-39
- [88] Roesch A, Landthaler M, Vogt T (2003) Dysplastischer melanozytärer Nävus. Eigene Entität, Melanomvorläufer oder Verlegenheitsdiagnose? *Der Hautarzt* 54 (9):871-885
- [89] Ross GL, Shoaib T, Scott J, Soutar DS, Gray HW, MacKie R (2002) The learning curve for sentinel node biopsy in malignant melanoma. *Br J Plast Surg* 55 (4):298-301
- [90] Sadeghi R, Alesheikh G, Zakavi SR, Fattahi A, Abdollahi A, Assadi M, Jangjoo A, Keshtgar M (2014) Added value of blue dye injection in sentinel node biopsy of breast cancer patients. Do all patients need blue dye? *Int J Surg* 12(4): 325-328
- [91] Salhab M Al Sarakbi W, Mokbel K (2005) Skin and fat necrosis of the breast following methylene blue dye injection for sentinel node biopsy in a patient with breast cancer. *Int Semin Surg Oncol* 2:26
- [92] Schmid-Wendtner MH, Paerschke G, Baumert J, Plewig G, Volkenandt M (2003) Value of ultrasonography compared with physical examination for the detection of locoregional metastases in patients with cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 13 (2):183-188
- [93] Schultz ES, Diepgen TL, Von Den Driesch P (1998) Clinical and prognostic relevance of serum S-100 beta protein in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 138(3):426-430

- [94] Scoggins CR, Martin RCG, Ross MI, Edwards MJ, Reintgen DS, Urist MM, Gershenwald JE, Sussmann JJ, Noyes RD, Goydos JS, Beitsch PD, Ariyan S, Stromberg AJ, Hagendoorn LJ, McMasters KM (2010) Factors Associated with False-Negative Sentinel Lymph Node Biopsy in Melanoma Patients. *Ann Surg Oncol* 17(3):709-717
- [95] Silberstein E, Koretz M, Rosenberg L, Bogdanov-Berezovsky A (2009) Long-Term Blue Discoloration after Intradermal Injection of Blue Dye for Sentinel Lymph Node Biopsy. *Isr Med Assoc J* 11(7):446-447
- [96] Simmons R, Thevarajah S, Brennan MB, Christos P, Osborne M (2003) Methylene Blue Dye as an Alternative to Isosulfan Blue Dye for Sentinel Lymph Node Localization. *Ann Surg Oncol* 10(3):242-247
- [97] Starz H, Balda BR, Krämer KU, Büchels H, Wang H (2001) A micromorphometry-based concept for routine classification of sentinel lymph node metastases and its clinical relevance for patients with melanoma. *Cancer* 91(11):2110-2121
- [98] Szeimies RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M (2010) Tumoren der Haut. Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie. Thieme Verlagsgruppe Stuttgart, New York, Delhi, Rio
- [99] Thomas JM (2007) Sentinel-node biopsy in melanoma. *N Engl J Med*. 356:418-421
- [100] Thomas JM (2013) Where is the evidence base for benefits of sentinel node biopsy in melanoma? *BMJ* 2013, 346:675
- [101] Tiffet O, Perrot JL, Gentil-Perret A, Prevot N, Dubois F, Alamartine E, Cambazard F (2004) Sentinel lymph node detection in primary melanoma with preoperative dynamic lymphoscintigraphy and intraoperative γ probe guidance. *Br J Surg* 91(7):886-892

- [102] Tsao H, Atkins MB, Sober AJ (2004) Management of Cutaneous Melanoma. *N Engl J Med* 351:998-1012
- [103] Tucker MA, Goldstein AM, (2003) Melanoma aetiology: where are we? *Oncogene* 22 (20):3042-3052
- [104] Ulrich J, Schwürzer-Voit M, Jenderka KV, Voit C (2014) Sonographische Diagnostik in der Dermatologie. *J Dtsch Dermatol Ges* 12(12):1083-1098
- [105] van Akkooi ACJ, Nowecki ZI, Voit C, Schäfer-Hesterberg C, Michej W, de Wilt JHW, Rutkowski P, Verhoef C, Eggermont AMM (2008) Sentinel Node Tumor Burden According to the Rotterdam Criteria Is the Most Important Prognostic Factor for Survival in Melanoma Patients. A Multicenter Study in 388 Patients With Positive Sentinel Nodes. *Ann Surg* 248:949-955
- [106] Veenstra HJ, Wouters MJWM, Kroon BBR, Valdés Olmos RA, Nieweg OE (2011) Less False-Negative Sentinel Node Procedures in Melanoma Patients With Experience and Proper Collaboration. *J Surg Oncol* 104(5):454-457
- [107] Vogt H, Schmidt M , Bares R , Grünwald F , Kopp J , Reiners C , Schober O , Schümichen C , Schicha H , Sciuk J , Sudbrock F , Wengenmair H ,
Verfahrensanweisung für die Wächter – Lymphknoten (sentinel lymph node; SLN) – Diagnostik, Kliniken für Nuklearmedizin, Klinikum Augsburg und Universitäten zu Köln, Tübingen, Hamburg, Frankfurt, Würzburg, Münster und Rostock
- [108] Volkenandt M, Schmidt M, Konz B, Gummer M, Hein R, Plewig G, Hölzel D (1999) Klinisch-epidemiologische Daten von Patienten mit malignen Melanomen aus dem Bereich des Tumorzentrum München von 1977 bis 1997. *Der Hautarzt* 50 (7):470-478
- [109] Vuylsteke RJ, Van Leeuwen PA, Stuijver M, Gietema HA, Kragt DR, Meijer S (2003) Clinical outcome of stage I/II melanoma patients after selective sentinel lymph node dissection: Long-term follow-up results. *J Clin Oncol* 21(6):1057-1065

- [110] Warycha M, Zakrzewski J, Ni Q, Shapiro RL, Berman RS, Pavlick AC, Polsky D, Mazumadar M, Osman I (2008) Meta-analysis of sentinel node positivity in thin melanoma (≤ 1 mm). *Cancer* 115(4):869-879
- [111] Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC (2001) Childhood sunexposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control* 12(1):69-82
- [112] Wieser, St. , März 2010, Lymphszintigraphie – Lymphabfluss, Helios Klinikum Berlin – Buch, Klinik für Nuklearmedizin
- [113] Willi JP; Matter M, Buchegger F, Antonescu C, Guggisberg D, Cerottini JP, Krischer J, Braun R, Kurt AM, Roche B, Lemoine R, Rimoldi D, Lejeune FJ, Liénard D, Delaloye A, Groupe Mélanome Lémanique (2007) Sentinel lymph node involvement and a high Breslow index are independent factors of risk for early relapse of melanoma. *Nuklearmedizin* 46(6):244-251
- [114] Wong S, Coit DG (2004) Role of surgery in patients with stage IV melanoma. *Curr Opin Oncol* 16(2):155-160
- [115] Zakaria S, Hoskin TL, Degnim AC (2008) Safety and technical success of methylene blue dye for lymphatic mapping in breast cancer. *Am J Surg* 196(2):228-233
- [116] Derm Net New Zealand Trust (2015) <http://www.dermnetnz.org/procedures/sentinel-node-biopsy.html>

7. ANHANG

7.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Permanente Diskoloration nach PB-Injektion[116].....	18
Abbildung 2: Injektion des Lokal-anästhetikum in peritumoröses Umfeld	25
Abbildung 3: Injektion von PB	25
Abbildung 4: Farbstoff im SLN-Gebiet.....	25
Abbildung 5: SLN nach PB-Färbung	25
Abbildung 6: Geschlechtsspezifische Tumorlokalisierung.	33
Abbildung 7: Histologischer Status der exstirpierten SLN (n) der Gesamtkohorte in Abhängigkeit von der Lokalisation	41
Abbildung 8: Anzahl (n) der SLN und NLN mit dem jeweiligen Färbungsverhalten.....	42
Abbildung 9: Zeigt das rezidivfreie Überleben.....	47
Abbildung 10: Zeigt das fernmetastasenfreie Überleben.....	48
Abbildung 11: Zeigt das Gesamtüberleben	48

7.2. Abkürzungen

ADO	Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	Akrolentiginöses Melanom
AMM	Amelanotisches malignes Melanom
BCC	Basalzellkarzinom
Cps	Counts per minute
CT	Computertomographie
DD	Differentialdiagnose
DGDC	Deutsche Gesellschaft für Dermatochirurgie
DTIC	Decarbacin
FAMMM	Familial Atypical Multiple Mole and Melanoma syndrome
GPD	Gamma-Probe-Detection
HE	Hämatoxylin-Eosin
lop	Intraoperativ
LEHR	Low Energy High Resolution
LK	Lymphknoten
LMM	Lentigo-maligna-Melanom
LN	Lymphnode
MBq	Megabecquerel
MC1R	Melanocortin-1-Rezeptor
MHz	Megahertz
MM	Malignes Melanom
MRT	Magnetresonanztomographie
NLN	Non-Sentinel-lymph-node
NM	Nuklearmedizin
NMM	Noduläres malignes Melanom
OR	Odd's Ratio
PB	Patentblau
PEC	Plattenepithelkarzinom
PET	Positronenemissionstomographie
P.i.	post injectionem
S.c.	subcutan
SD	Stanarddeviation/-abweichung
SLN	Sentine-lymph-node
SLNB	Sentinel-lymph-node Biopsy

SSM	Superfiziell spreitendes Melanom
Tc	Technetium
Tis	Tumor in situ
TMR	Tumor-Mitoserate
UCM	Inklassifizierbares Melanom
UV	Ultraviolettes Licht
ZNS	Zentrales Nervensystem

7.3. Stammblatt zur Datenerfassung

„Wertigkeit der additiven Anwendung eines Vitalfarbstoffes (Patentblau) im Rahmen der
Gammasonden-gestützten Sentinel-Lymphknotenbiopsie“

Patientenzahl: n=100 / Gruppe

Ausschlusskriterien: TD < 0,75 mm

PT der Kopf-/Halsregion, Schleimhaut, Uvea

Primärexzision mit Verschiebelappenplastik

Alter > 79 Jahre

Satelliten- und/oder Intransit-Filiae bei Primärdiagnose

LK-Makrofiliae, Fernmetastasen bei Primärdiagnose
(Histologisch im PT-Exzidat nachweisbare Lymphangiosis
und/oder Satellitenfiliae mit R0-Resektion sind tolerabel)

Studiendesign: retrospektiv

Studienziele: Anteil SLN-positiver Patienten (*primär*)
– Annahme: kein Unterschied
(ggf. Stratifikation inguinal vs. axillär)
Rezidivfreies Überleben (*sekundär*)
Fernmetastasenfreies Überleben (*sekundär*)
Gesamtüberleben (*sekundär*)

Beginn der operativen Prozeduren:

01.01.2008

Ende der Prozeduren: 31.12.2010

Ende der Nachbeobachtung: 31.12.2012

Anleitung zur Dateneingabe

Gruppe	1	mit Patentblau
	2	ohne Patentblau
Pat. ID	1 – 200	fortlaufend
Geschlecht	1	männlich
	2	weiblich
MM-Typ	1	SSM
	2	SSM, sek. nodulär
	3	NM
	4	ALM
	5	LMM
	6	UCM
TD	x,xx mm	bei unklassifizierbarer Tumordicke: kein Eintrag
CL	2 – 5	bei unklassifizierbarem Clark-Level: kein Eintrag
ulzeriert	0	nein
	1	ja
AJCC-Stadium (nach Staging)	1	IA
	2	IB
	3	IIA
	4	IIB
	5	IIC
	6	IIIA
	7	IIIB
	8	IIIC

T	1	T1a		
	2	T1b		
	3	T2a		
	4	T2b		
	5	T3a		
	6	T3b		
	7	T4a		
	8	T4b		
N	0	pN0		
	1	N1a		
	2	N1b (<i>kommt nicht vor</i>)		
	3	N2a		
	4	N2b (<i>kommt nicht vor</i>)		
	5	N2c		
	6	N3		
PT-Lokalisation	1	obere Extremität		rechts
	2	obere Extremität links		
	3	Stamm		
	4	untere Extremität		rechts
	5	untere Extremität links		
Menge PB	x,x ml			
Anzahl SLN	Gesamtanzahl exstirpierter Sentinel-LK			
Anzahl NLN	Gesamtanzahl nachgeschalteter LK (< 20% der max. SLN-cts)			

SLN-Lok, NLN-Lok	1	axillär rechts	
	2	axillär links	
	3	inguinal rechts	
	4	inguinal links	
	5	cubital / OA rechts	
	6	cubital / OA links	
	7	popliteal rechts	
	8	popliteal	links
	9	supraclaviculär	rechts
	10	supraclaviculär links	

SLN-PB/NLN-PB	0	keine Patentblaufärbung
	1	geringe Patentblaufärbung
	2	starke Patentblaufärbung

keine Angabe bei Patienten der Gruppe 1

SLN-Histo/NLN-Histo	0	negativ
positiv		

SLN-Status	0	negativ
	1	positiv

Art Rezidiv (1. Rezidiv)	1	Rezidiv in loco (PT)
	2	Satellitenfila(e)
	3	Intransit-Fila(e)
	4	Regionäre LK-Filia(e)
	5	Fernmetastasen nicht-viszeral
	6	Fernmetastasen viszeral

Bei Vorhandensein unterschiedl. Rezidivarten zählt die höchste

Todesursache MM	0	nein
	1	ja

8. DANK

Zunächst danke ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt für die Überlassung des Themas.

Ein besonderer Dank geht an Herrn Dr. med. Rass für die in allen Phasen der Dissertation großartige Hilfe und Unterstützung.

Ich danke auch allen namentlich nicht erwähnten Mitarbeitern der Universitätsklinik und vor allem Bekannten und Freunden bei der Korrektur der Arbeit und die vielen aufmunternden Worte.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern. Ihnen widme ich diese Arbeit für ihre Geduld, ihre Unterstützung und Förderung während meines gesamten Lebens. Ich danke euch!

Ich danke meiner Frau, für ihre Liebe, ihren immerwährenden Beistand, ihre Aufmunterungen und dafür, dass sie in allen Lebenslagen an meiner Seite steht.

9. LEBENS LAUF

Persönliche Angaben

Name: Andrej Matthies
Geburtsdatum: 13.01.1986
Geburtsort: Emanschelinsk (Russische Föderation)
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Eltern: Peter und Nina Matthies

Schul Ausbildung

1992 – 1996 Grundschule Etzbach (Rheinland-Pfalz)
1996 – 2005 Freiherr-vom-Stein-Gymnasium Betzdorf (Rheinland-Pfalz)
03/2005 Abitur

Studium

2006-2007 Studium der Rechtswissenschaft an der Rheinischen
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn mit
Abschluss des Grundstudiums

2007-2009 Studium der Vorklinik im Fach Humanmedizin an der
Universität zu Pécs, Ungarn

2009-2013 Studium des klinischen Abschnitts im Fach Humanmedizin
an der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Praktisches Jahr

08/2012 – 12/2012 Orthopädie, Kantonsspital Bruderholz (Basel, CH)
12/2012 – 04/2013 Allgemeinchirurgie, Kantonsspital Aarau (CH)
04/2013 – 07/2013 Innere Medizin, Universitätsspital Zürich (CH)

Beruflicher Werdegang

Seit 02/2014 Assistenzarzt in der Klinik für Orthopädie, Unfall-, Handchirurgie
und Sportverletzungen, St. Marienkrankenhaus Siegen