

Aus der Klinik für Chirurgie und Chirurgische Onkologie,
Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Buch
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. P. M. Schlag

Habilitationsschrift

Das Wächterlymphknoten-Konzept- Entwicklung und klinisch-wissenschaftliches Potential beim Mamma- und kolorektalen Karzinom

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach

Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité Universitätsmedizin Berlin

Dr. med. Andreas Bembenek
Geboren am 25. Juli 1965 in Landshut/ Bayern

eingereicht Mai 2007

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Hohenberger
Direktor der Klinik für Allgemeine und Viszeralchirurgie
Klinikum der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Ch. Wittekind
Direktor des Instituts für Pathologie
Klinikum der Universität Leipzig

Inhalt

| | | |
|----------|---|----|
| 1 | Einleitung und Problemstellung | |
| 1.1 | Problematik des Lymphknotenstatus | 4 |
| 1.2 | Historische Entwicklung der Lymphbahndiagnostik | 5 |
| 1.3 | Hypothese | 12 |
| 1.4 | Definitionen | 13 |
| | 1.4.1 Definition des Sentinel- Lymphknotens | 13 |
| | 1.4.2 Begriffsdefinitionen | 13 |
| | 1.4.2.1 Lymphatic mapping | 13 |
| | 1.4.2.1 Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB) | 13 |
| | 1.4.2.3 Detektionsrate | 14 |
| | 1.4.2.4 Sensitivität | 14 |
| | 1.4.2.5 Vorhersagegenauigkeit | 15 |
| | 1.4.2.6 Upstaging | 15 |
| 1.3 | Methodisches Vorgehen | 15 |
| | 1.3.1 Farbstoffmethode | 15 |
| | 1.3.2 Radiokolloidmethode | 17 |
| | 1.3.3 Grundlagen der Methodik und Methodenvergleich | 18 |
| 1.4 | Fragestellung | 21 |
| 2 | Publikationen | |
| 2.1 | Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom | |
| 2.1.1 | Sentinel lymph node dissection in breast cancer. <u>Bembenek A.</u> , Reuhl T., Markwardt J., Schneider U., Schlag P. M. <i>Swiss Surg</i> 1999, 5: 217-221 | 22 |
| 2.1.2 | Sentinel lymphadenectomy – Ready for clinical routine ? <u>Bembenek A.</u> , Schlag P. M. <i>Onkologie</i> 2000; 23: 408-409 | 23 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 2.1.3 | A concept for the clinical implementation of sentinel lymph node biopsy in patients with breast carcinoma with special regard to quality assurance. Kuehn T., <u>Bembenek A.</u> , Decker T., Munz D. L., Sautter-Bihl M.L., Untch M., Wallwiener D. <i>Cancer</i> 2005; 103(3): 451-46132 | 24 |
| 2.1.4 | Impact of patient- and disease-specific factors on SLNB in breast cancer patients. Are current guidelines justified? <u>Bembenek A.</u> , Albrecht H., Kemnitz E., Gretschel S., Schneider U., Dresel S., Fischer J., Schlag P.M. <i>World J Surg</i> 2006; 31: 267-275 | 25 |
| 2.1.5 | Long-term morbidity of patients with early breast cancer after sentinel lymph node biopsy compared to axillary lymph node dissection. Schulze T., Mucke J., Markwardt J., Schlag P. M., <u>Bembenek A.</u> <i>J Surg Oncol</i> 2006; 93(2); 109-119 | 26 |
| 2.1.6 | Immunohistochemical detection of lymph-node metastases. <u>Bembenek A.</u> , Haensch W., Schneider U., Markwardt J., Schlag P. M. <i>Lancet</i> 2000; 335: 144-15535 | 27 |
| 2.1.7 | Localisation of small tumor deposits in the SLN predicts Non-SLN metastases in breast cancer patients. Li J., Haensch W., Kemmner W., Warnick P., Fischer J., Schlag P.M., <u>Bembenek A.</u> <i>Eur J Surg Oncol</i> 2007 (in press) | 28 |
| 2.2 | Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom | |
| 2.2.1 | Optimierung des Staging beim Kolonkarzinom durch Sentinel-Lymphknoten-Biopsie. <u>Bembenek A.</u> , Schneider U., Gretschel S., Ulmer C., Schlag P. M. <i>Chirurg</i> 2005; 76: 58-67 | 29 |
| 2.2.2 | Sentinel lymph node biopsy in colon cancer- a prospective Multicenter Trial. <u>Bembenek A.</u> for the German Study Group <i>Ann Surg</i> 2007; 245: 858-863 | 30 |
| 2.2.3 | Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and non-sentinel lymph nodes of colon cancer patients. <u>Bembenek A.</u> , Schneider U., Gretschel S., Fischer J., Schlag P. M. <i>World J. Surg</i> 2005; 29(9): 1172-1175 | 31 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 2.2.4 | Sentinel lymph node biopsy in rectal cancer – Not yet ready for routine clinical use. <u>Bembenek A.</u> , Rau B., Moesta T., Markwardt J., Ulmer C., Gretschel S., Schneider U., Slisow W., Schlag P. M. <i>Surgery</i> 2004; 135(4): 498-505 | 32 |
| 2.3 | Das Sentinel-Lymphknoten-Konzept als Modell für immunologische Forschung | |
| 2.3.1 | Presence of DC-lamp+-dendritic cells in sentinel and non-sentinel lymph nodes of breast cancer patients. <u>Bembenek A.</u> , Li J., Loddenkemper C., Kemmner W., Stein H., Wernecke K.D., Schlag P.M.. <i>Eur J Surg Oncol</i> 2007 (in press) | 34 |
| 3 | Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion | |
| 3.1 | Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom | 34 |
| 3.2 | Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom | 36 |
| 3.3 | Das Sentinel-Lymphknoten-Konzept als Modell für immunologische Forschung | 39 |
| 4 | Wertung und Ausblick | 40 |
| 5 | Literatur | 42 |
| | Erklärung nach §4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité | 47 |

1 **Problematik des Lymphknotenstatus und Entwicklung des Wächterlymphknotenkonzeptes**

1.1 **Problematik des Lymphknotenstatus**

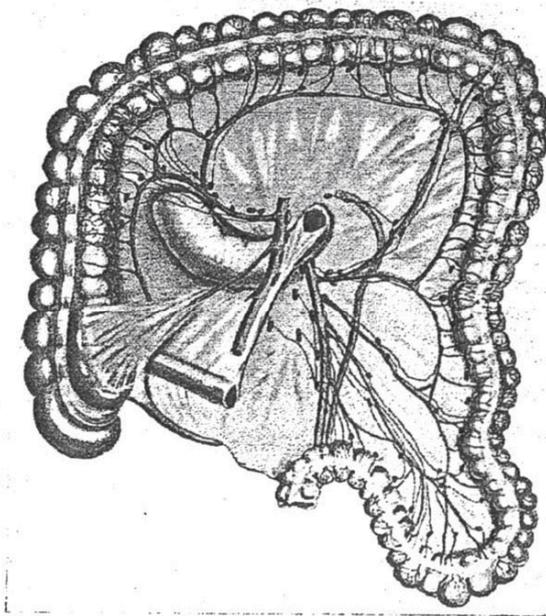
Der Lymphknotenstatus (Nodalstatus) ist für viele Tumorentitäten nach der hämatogenen Metastasierung der wichtigste prognostische Parameter. Die Einstufung eines Patienten als nodal positiv oder negativ ist allerdings keine einfach zu bestimmende Größe, sondern entscheidend von Sorgfalt und Technik sowohl des Chirurgen als auch des Pathologen abhängig. So beeinflusst der Chirurg durch die Radikalität und Ausrichtung der Lymphknotendisektion Anzahl und Qualität der resezierten Lymphknoten. Dabei orientierte sich die Technik der Dissektion bisher an den Lymphabflußgebieten, die dem Tumor aufgrund anatomischer, allerdings nicht funktioneller Kriterien zugeordnet wurden. Diese beruhen im Wesentlichen auf den Untersuchungen zur Anatomie der Lymphbahnen Ende des 19. Jahrhunderts^{1,2}. Der Pathologe wiederum beeinflusst die Validität des Nodalstatus entscheidend durch die Sorgfalt bei der Lymphknotenauswahl und -präparation am Resektat. Dabei kommt der Anzahl der untersuchten Lymphknoten eine entscheidende Bedeutung zu: Für verschiedene Tumorentitäten konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der untersuchten Lymphknoten sowohl mit dem Anteil der als N+ klassifizierten Patienten korreliert³ als auch mit dem Überleben der Patienten⁴⁻⁷. Letzterer Zusammenhang zur Prognose gilt sowohl für nodal negative Patienten, deren Metastasenfreiheit durch eine erhöhte Anzahl untersuchter Lymphknoten exakter diagnostiziert wird als auch für nodal positive Patienten, deren Prognose mit der Zahl der befallenen Lymphknoten als Ausdruck wachsender Tumoraggressivität schlechter wird. Bei nodal positiven Patienten kann sich die Anzahl der befallener Lymphknoten außerdem auf die Wahl des Chemotherapeutikums und damit ebenfalls auf die Prognose auswirken. Die von der UICC für die meisten lymphonodal metastasierenden Malignome geforderte Mindestanzahl an Lymphknoten stellt lediglich einen Kompromiß dar zwischen allgemein praktikablem Aufwand und Genauigkeit der Diagnose⁸. Neben der Anzahl der präparierten Lymphknoten nimmt auch die Technik der histopathologischen Aufarbeitung entscheidenden Einfluß auf das Untersuchungsergebnis. Durch Serienschnitte und immunhistologische Untersuchungsmethoden lassen sich sowohl kleinere Makrometastasen als auch Mikrometastasen (MM) und isolierte Tumorzellen (ITC, gemäß⁸) in relevanter Anzahl zusätzlich nachweisen. Welche Bedeutung diese kleinen Tumorzellverbände für die einzelnen Tumorentitäten haben, ist letztlich noch für keine Tumorentität geklärt, da entsprechend große Studien mit standardisierten Untersuchungsverfahren und aussagekräftiger Patientenzahl aufgrund des hohen präparatorischen Aufwandes bisher nicht durchgeführt wurden. Seit vielen Jahren gibt es da-

her Bestrebungen, den Lymphabfluß für die verschiedenen Tumorentitäten genauer zu charakterisieren und letztlich eine auf die Erkrankung des Patienten möglichst exakt zugeschnittene Lymphknotendissektion zu ermöglichen. Das Konzept der Sentinel-Lymphknotenentnahme –in der Literatur und im Folgenden nicht ganz exakt „Sentinel-Lymphknotenbiopsie“ (SLNB) genannt- ist für viele Tumorentitäten ein vielversprechender Ansatz, die Genauigkeit der Nodalstatusbestimmung zu erhöhen, dabei aber gleichzeitig die Morbidität des chirurgischen Eingriffes zu senken.

1.2 Historische Entwicklung der Lymphbahndiagnostik

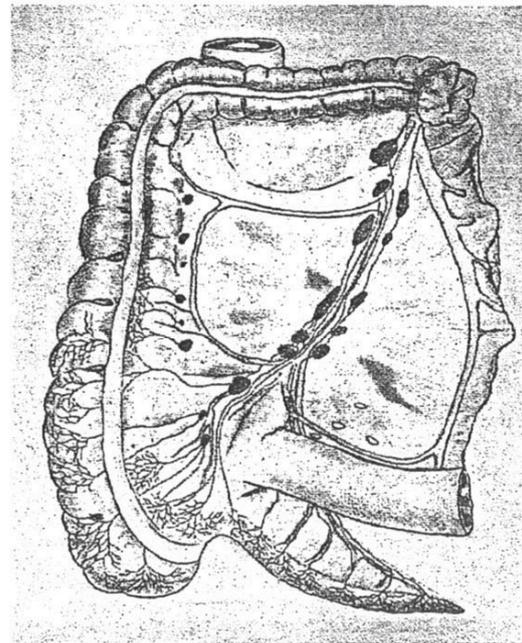
Basierend auf anatomischen Studien von Sappey aus der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts, wurden um 1900 erneut Studien zur Lymphbahnanatomie an Leichenpräparaten mittels Farbstoffmarkierung vorgenommen, um die Kenntnisse diesbezüglich aufzufrischen, zu vervollständigen und einer breiteren Leserschaft zugänglich zu machen ^{1,9}. Bemerkenswerterweise entspricht der damalige Kenntnisstand und insbesondere die daraus abgeleiteten Schlußfolgerungen für die chirurgische Therapie ¹⁰ bereits weitestgehend unserem heutigen Wissen.

FIG. 1.



The lymphatics of the colon. (Proc. Roy. Soc. of Medicine.)

FIG. 2.



Lymphatics of the caecum and appendix. Anterior view. (Lancet, Apr. 27, 1907.)

Abbildung 1: Jamieson JK, Dobson JF. Annals of Surgery 1909 The lymphatics of the colon with special reference to the operative treatment of cancer of the colon

Im Gegensatz zu den zuvor vorherrschenden Leichenuntersuchungen wurden in den zwanziger und dreißiger Jahren erste in-vivo-Experimente zur Erforschung des funktionellen Lymphabflusses vorgenommen. Neben ausgedehnten Tierversuchsreihen zur Definition der biologisch-physiologischen Eigenschaften des lymphatischen Systems oder der Zusammensetzung der Lymphe¹¹ wurden auch in-vivo-Untersuchungen am Menschen durchgeführt. So pumpten Braithwaite et al. 1923 mit einer eigens konstruierten Luftdruckpumpe Indigo-Carmin in die Lymphabflußwege des Zaecum und des Magens¹²

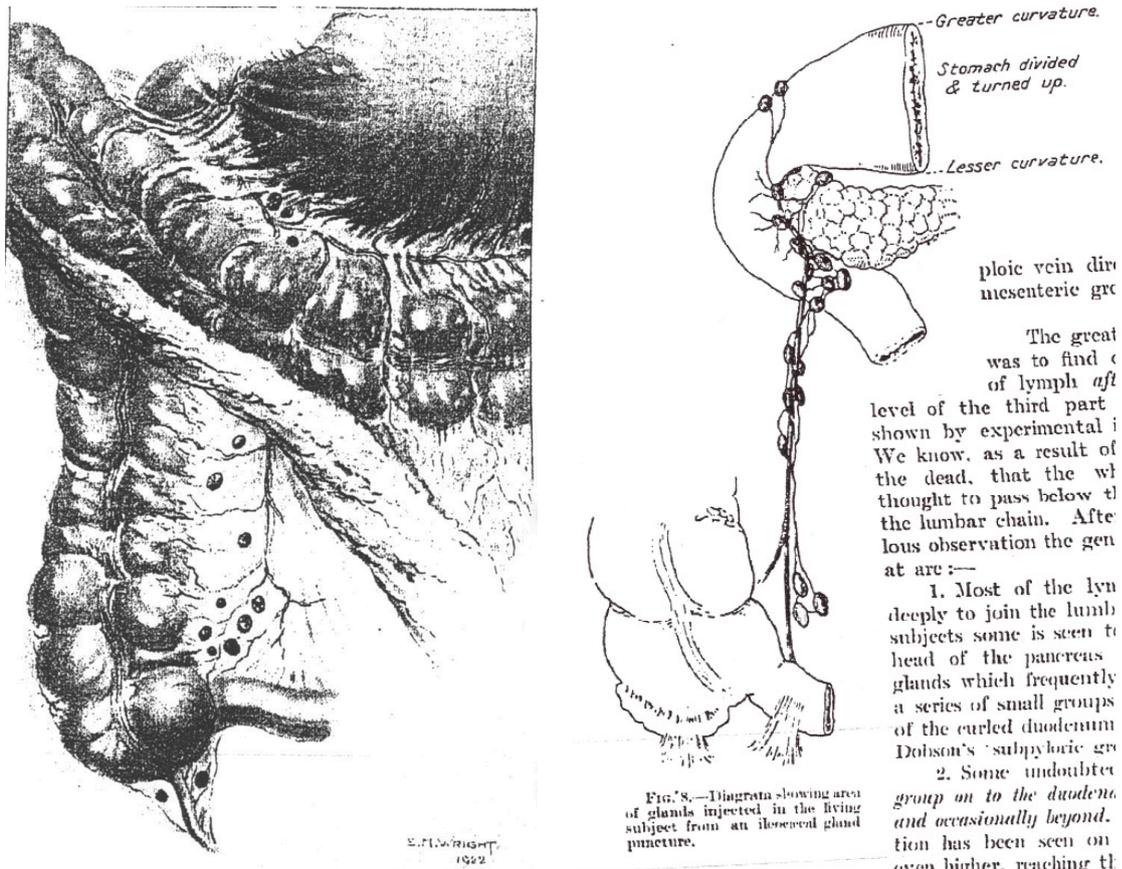


Abbildung 2: Braithwaite LR. The British Journal of Surgery: The ileocaecal angle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer

Ziel war dabei weniger die Erforschung der lymphogenen Metastasierung bei Krebserkrankungen als vielmehr die Darstellung bzw. Erforschung bisher unbekannter, iuxtaregionärer und funktionell bedeutsamer lymphatischer Konnexionen, beispielsweise zwischen Appendix und Duodenum. So wurde ein pathogenetischer Zusammenhang zwischen Appendizitis und Duodenalulzera beschrieben¹². Mit Beginn der 50er Jahre verstärkte sich das Interesse an Studien zur in vivo-Darstellung des Lymphabfluß weiter. Nun stand zunehmend die lymphatische Metastasierung maligner Tumorerkrankungen im Vordergrund. J. Weinberg und E. M. Greaney publizierten 1950 bereits eine Methode zur intraoperativen Darstellung der

Lymphabflußwege des Magens mittels Farbstoffinjektion („Pontamine sky blue“)¹³, die technisch dem heutigen Vorgehen des „intraoperativen lymphatic mapping“ sehr nahe kommt. Grant et al. führten zur selben Zeit präoperative Farbstoffinjektionen in einer Karzinom-befallenen Brust durch, um die intramammären Lymphbahnen darzustellen¹⁴.

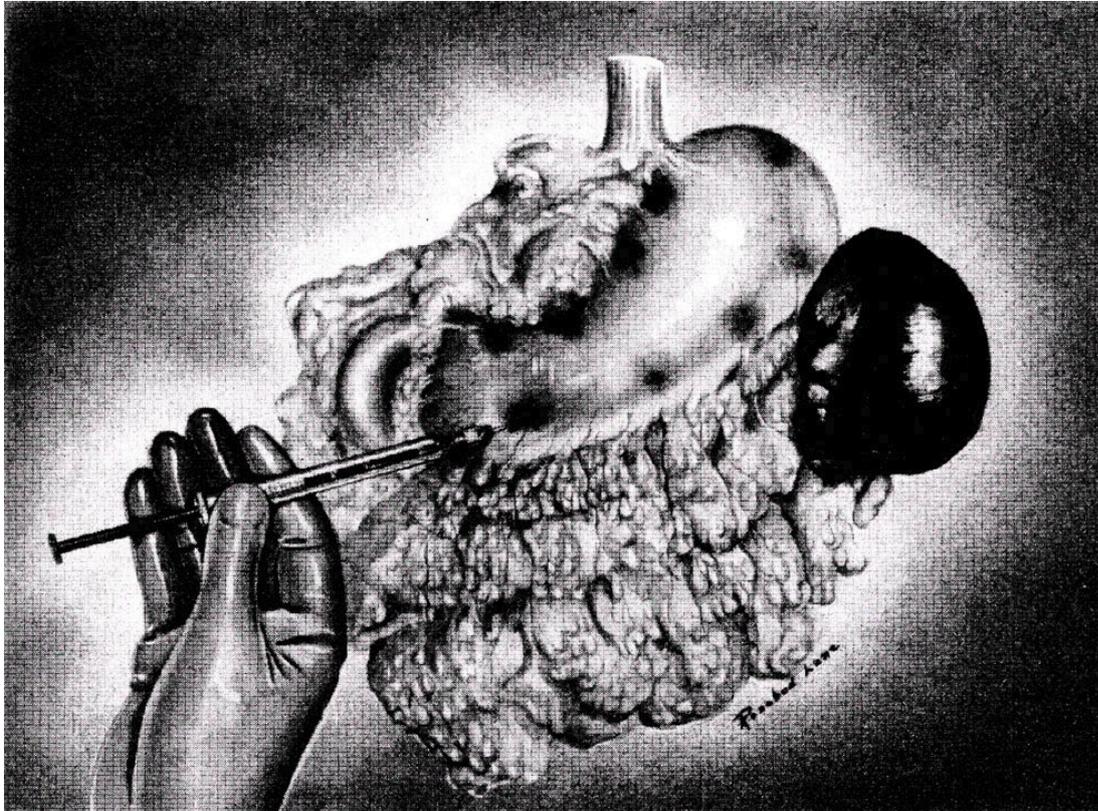


Fig. 3. Method of injection of the dye solution into the muscularis of the stomach. Several injections are made near the greater and lesser curvatures.

Abbildung 3: Weinberg J, Greaney EM Surg Gynecol 1950: Identification of regional lymph nodes by means of a vital staining dye during surgery of gastric cancer

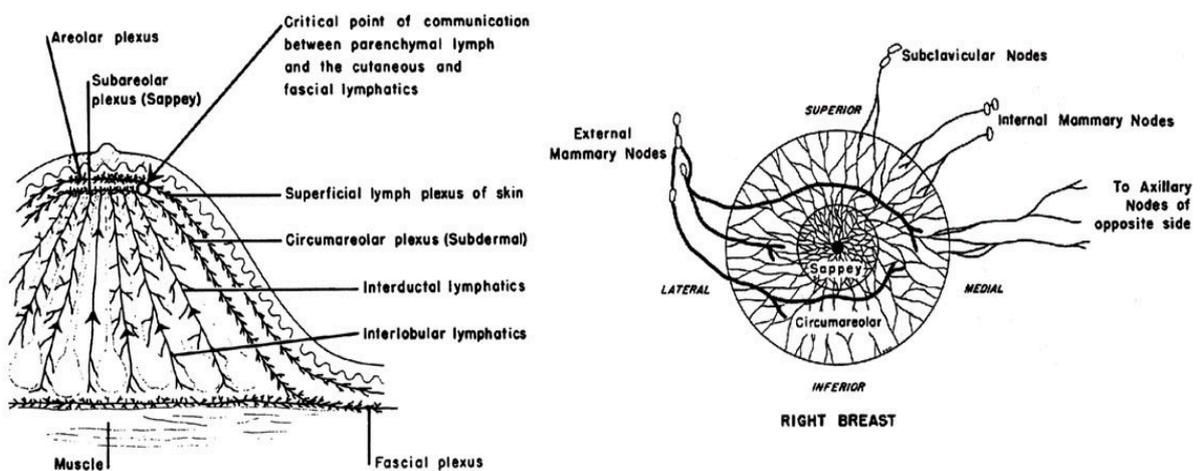


Abbildung 4: Grant RN et al. Surgery 1952: The surgical significance of the subareolar lymph plexus in cancer of the breast

Diese Untersuchungen hatten aber -im Gegensatz zum Prinzip der Sentinel Lymphknotenbiopsie- eine **möglichst komplette Darstellung sämtlicher Lymphabflußwege** zum Ziel, um eine vollständige Resektion aller relevanten Lymphknoten zu erreichen.

Durch die anschließend rasch voranschreitende Entwicklung bildgebender Verfahren trat die unmittelbare Beobachtung des Lymphabflusses in vivo oder am Präparat in den 50er und 60er Jahren zunächst in den Hintergrund. Mittels konventionell-radiologischer Lymphangiographie oder Lymphszintigraphie versuchte man, den Lymphabfluß und auch die lymphatische Metastasierung bildgebend darzustellen. Dabei schloß man -beispielsweise beim Mammakarzinom¹⁵⁻¹⁷, Malignomen des kleinen Beckens^{18,19} oder Melanomen²⁰ anhand indirekter Zeichen wie Füllungsdefekten und Lymphabflußblockaden auf einen metastatischen Lymphknotenbefall.

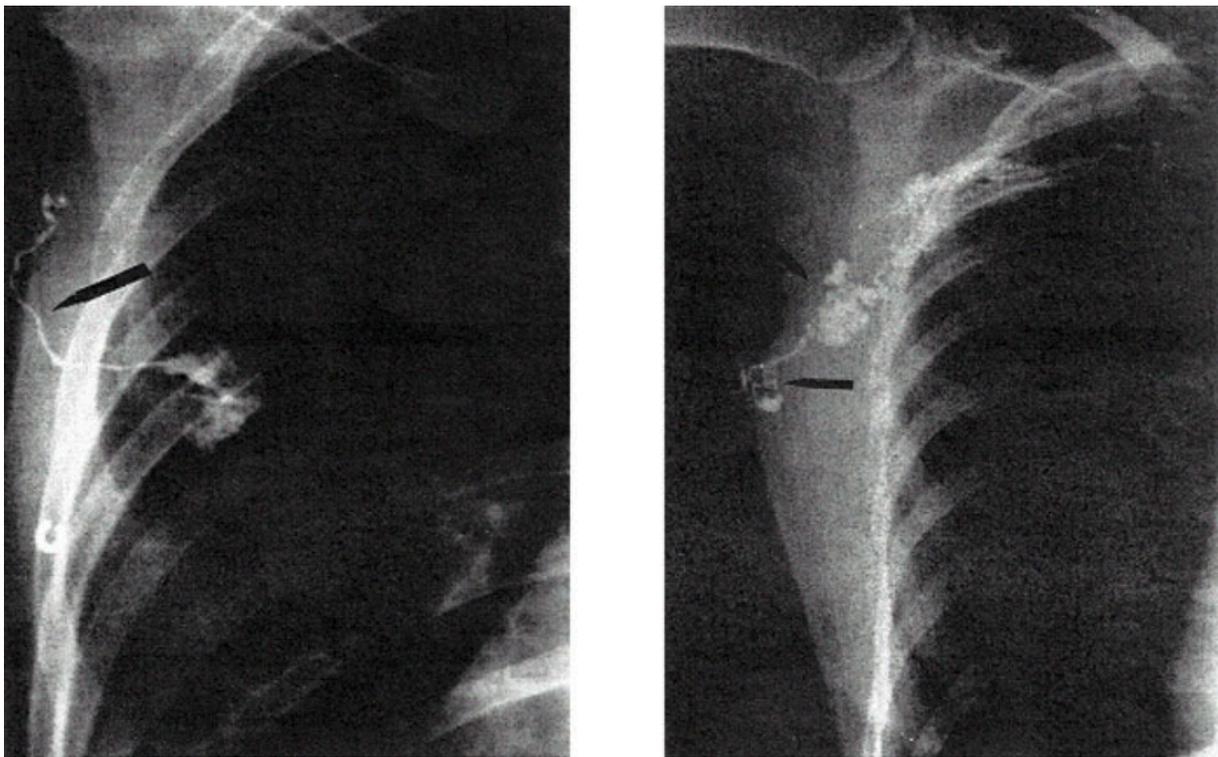


Abbildung 5a: Halsell JT et al. Ann Surg 1965: Lymphatic drainage of the breast demonstrated by vital dye staining and radiology

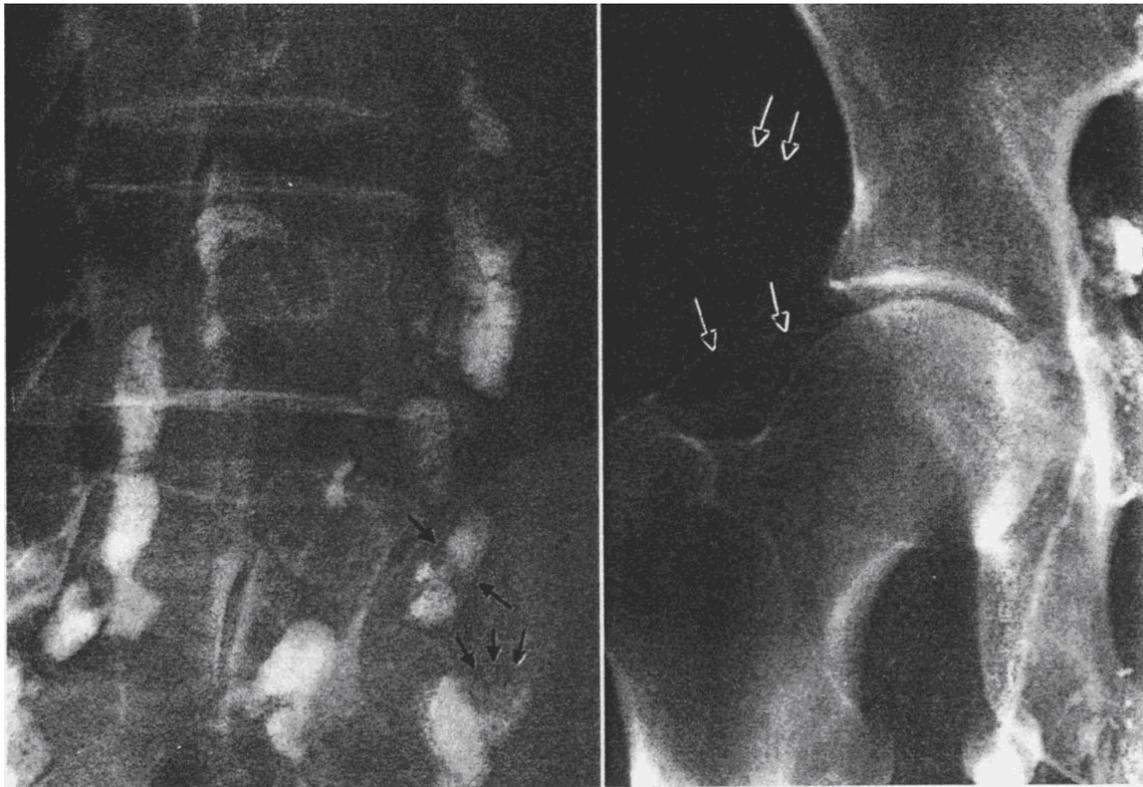


Abbildung 5b: Gold RH (1969): Lymphangiography in the evaluation of malignant neoplasms. *Oncology* 23:289-298.

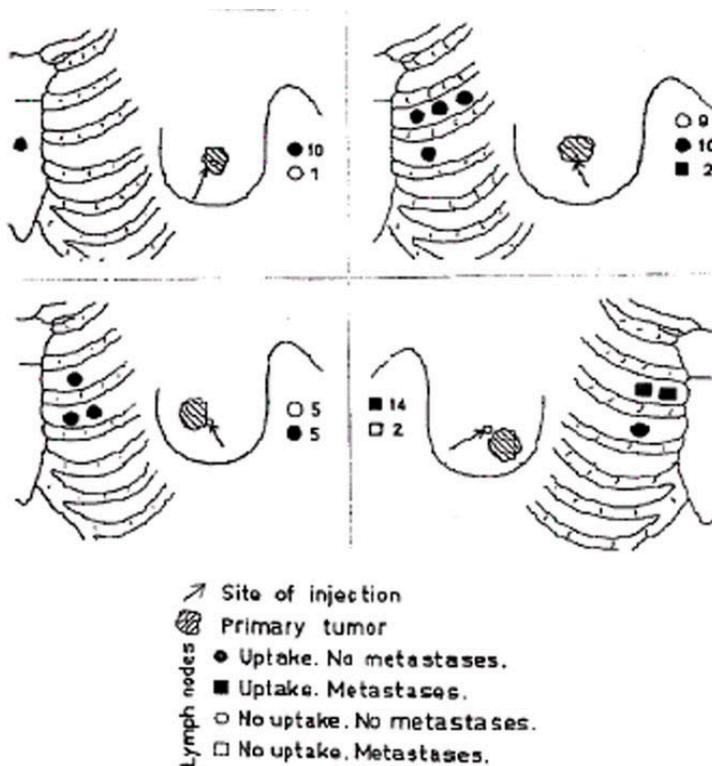


Abbildung 6: Hultborn KA et al. (1955): The lymph drainage from the breast to the axillary and parasternal lymph nodes, studied with the aid of colloidal au198. *Acta Radiol* 43:52-64.

Die Kontrastmittel- oder Tracer-Injektion zur Darstellung der Lymphabflußregionen erfolgte dabei allerdings in der Regel unabhängig vom Sitz des Primärtumors in eine beliebige Lymphbahn, von der ein Lymphabfluß in die entsprechende Region angenommen wurde.

Mitten in diese Phase der Entwicklung bildgebender Verfahren fiel dann, völlig unabhängig von jeder Bildgebung, die erstmalige Nennung des Begriffes „Sentinel node“ durch E. A. Gould. Er berichtete 1960 in der Zeitschrift „Cancer“ über die intraoperative Beobachtung, daß bei Patienten mit Parotistumoren ein Lymphknoten am Venenwinkel von V. facialis anterior und posterior als Referenzlymphknoten für einen Lymphknotenbefall der Halsregion fungieren kann. Die Autoren empfahlen als Konsequenz bereits damals eine intraoperative Schnellschnittuntersuchung dieses Lymphknotens zur Indikationsstellung einer Neck dissection und ggfs. Bestätigung der im Schnellschnitt noch recht unsicheren Einschätzung der Tumordignität²¹

OBSERVATIONS ON A "SENTINEL NODE" IN CANCER OF THE PAROTID

ERNEST A. GOULD, M.D., THEODORE WINSHIP, M.D., PHILIP H. PHILBIN, M.D.,
AND HARRY HYLAND KERR, M.D., C.M.

THE QUESTION of whether or not one should do a radical neck dissection in continuity with total parotidectomy for carcinoma of the parotid gland has not been settled.^{1, 3, 4, 6} A review of current opinion in the literature discloses no specific plan for making a reasoned selection of the type of operation to be done at the operating table. Beahrs stated, "For malignant lesions, radical total parotidectomy and possibly radical neck dissection should be done."² There are several factors bearing on the consideration of the problem. First, some pathologists do not feel they can satisfactorily interpret microscopic frozen section specimens of parotid tumors. Second, if one does a lobectomy or total excision of the gland and then receives a frozen section diagnosis of malignant tumor, there frequently remains a doubt

surprise of the surgeon, the report was "lymph node with metastatic tumor." Radical neck dissection was therefore carried out in continuity with total parotidectomy. Since that time 28 parotid tumors have been removed, and the "sentinel node" just described has routinely been removed early in the dissection for microscopic evaluation by the pathologist. On 3 occasions the node contained malignant tumor, and the neck dissection and parotidectomy were done en bloc. In 5 patients, although the lymph node was negative for cancer, the primary parotid lesion was reported to be malignant. The remaining 20 patients had negative lymph nodes and benign tumors, i.e., 14 benign mixed tumors, 4 Warthin's tumors, 1 adenoma, and 1 benign lymphoepithelial tumor.

Abbildung 7: Gould EA et al. Cancer 1960: Observations on a " sentinel node " in cancer of the parotid. Erstmalige Verwendung des Begriffes "Sentinel Node" in einer Publikation

Diese Arbeit fand jedoch international kaum Beachtung, das beschriebene Prinzip der SLNB geriet zunächst anscheinend in Vergessenheit.

Nach weiteren Jahren der Evaluation bildgebender Verfahren dagegen erwies sich die konventionell-radiologische Lymphangiographie mit Kontrastmittel im klinischen Einsatz als

nicht überzeugend, da trotz hoher Spezifität die Sensitivität zur Erkennung von Lymphknotenmetastasen gerade bei Tumoren im Frühstadium der Erkrankung zu gering war²².

1977 dann erschien erneut in der Zeitschrift „Cancer“ eine Arbeit zum Thema „Sentinel Lymphknoten“. Ramon M. Cabanas führte an 100 Patienten mit Peniskarzinom eine Lymphangiographie durch und postulierte die Existenz eines SLN im Bereich des oberflächlichen Venensternes an der V. saphena magna-Einmündungsstelle. Nach der initialen Phase der SLN-Lokalisation mittels Lymphangiographie demonstrierte er später die SLN-Detektion ausschließlich nach anatomischen Kriterien.

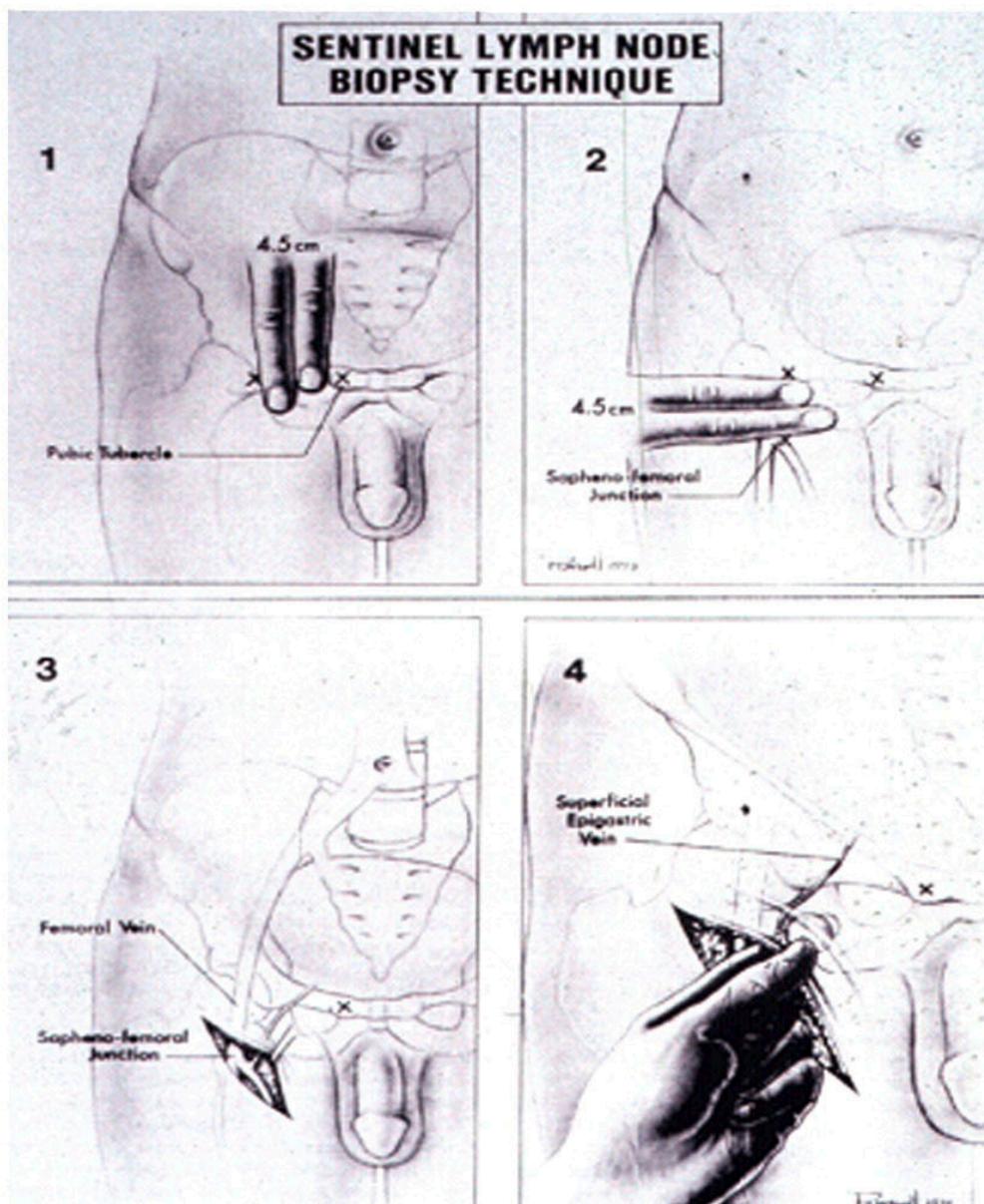


Abbildung 8: Cabanas RM. Cancer 1977: A new approach for the treatment of penile carcinoma

Die Aussagekraft des SLN wurde bei 15 nodal positiven Patienten durch eine anschließende inguinale Lymphknotendisektion ohne falsch-negatives Ergebnis bestätigt²³.

Obwohl diese Ergebnisse bei Patienten mit Peniskarzinomen auch von anderen Arbeitsgruppen nachvollzogen werden konnten²⁴, erlangte das Sentinel-Lymphknotenprinzip für andere Tumorentitäten zunächst keine Bedeutung und geriet erneut mehr oder weniger in Vergessenheit. Dies erstaunt retrospektiv umso mehr, als die Lymphszintigraphie bei Melanompatienten bald darauf bereits im Sinne des heutigen „Lymphatic mapping“ eingesetzt und zur Indikationsstellung für eine Lymphknotendisektion bei Melanompatienten herangezogen worden war. Dabei schrieben Sullivan et al. dem „1. Lymphknoten in der Reihe“ eine Sonderstellung zu. Das daraus abzuleitende selektive Vorgehen bei der Indikationsstellung zur Disektion wurde jedoch nicht umgesetzt²⁵.

Es ist das Verdienst von Donald L. Morton, dass 1992 das Sentinel Lymphknotenprinzip bei Melanompatienten wieder etabliert wurde. Die damals verwendete Farbstofftechnik hat heute –technisch weitgehend unverändert- Eingang in die klinische Anwendung gefunden. Blauer Farbstoff dient –damals wie heute- nach peritumorale Injektion zur intraoperativen Markierung des(r) anschließend exzidierten SLN. Nach den Ergebnissen der zunächst regelhaft als Validitätskontrolle durchgeführten Lymphknotendisektion lag die Sensitivität zur Erkennung des Vorhandenseins von Lymphknotenmetastasen bei Melanompatienten bereits in der Erstpublikation bei 95%²⁶.

Krag et al. beschrieben kurz darauf (1993) als erste Arbeitsgruppe die Identifikation des Sentinel-Lymphknotens mit Hilfe der Radiokolloidmethode und wandten diese Methode auch erstmals bei Patienten mit Mammakarzinom an²⁷. Fast gleichzeitig nutzten in den USA Giuliano et al. aus der Arbeitsgruppe von D. Morton in Los Angeles auch die Farbstoffmethode zur SLN-Detektion beim Mammakarzinom²⁸.

1.3 Hypothese

Das Konzept der Sentinel-Lymphknotenentnahme basiert auf der Annahme, dass es einen oder einige wenige Lymphknoten gibt, welche(r) die Lymphe und die damit vom Tumor freigesetzten Tumorzellen primär drainieren. Die Wahrscheinlichkeit, Makro- oder Mikro-metastasen bzw. isolierte Tumorzellen aufzufinden, ist damit in diesem Lymphknoten am Größten. Diese Annahme setzt einen gerichteten, nicht zufällig verteilten Abstrom von Tumorzellen aus dem Tumorgewebe voraus.

1.4 Definitionen

1.4.1 Definition des Sentinel- (deutsch: „Wächter“-) Lymphknoten

Der(ie) Lymphknoten mit dem höchsten Risiko einer lymphatischen Metastasierung in der Lymphabflussregion eines Tumors wird (werden) als Sentinel-Lymphknoten (SLN) definiert. Die Bezeichnung ist eine funktionelle Beschreibung und nicht von der Lage oder Größe des Lymphknotens abhängig. Andere, Nicht-Sentinel-Lymphknoten (Non-SLN) können beispielsweise näher zum Primärtumor oder auch zwischen Primärtumor und Sentinel-Lymphknoten gelegen sein. Diese Definition schließt den häufig gebrauchten Begriff des „1. drainierenden Lymphknoten“ ein, sofern man diesen ebenfalls funktionell-anatomisch und nicht rein örtlich begreift.

1.4.2 Begriffsdefinitionen

Für die Bewertung des Sentinel-Lymphknoten-Konzeptes bei unterschiedlichen Organtumoren sind folgende Begriffe und Kriterien wichtig:

1.4.2.1 „Lymphatic mapping

Darstellung des Lymphabstromes aus einer bestimmten Region in vivo, beispielsweise durch Lymphszintigraphie oder Lymphographie.

1.4.2.2 „Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB)“

Selektive Entnahme des (oder einzelner) Lymphknoten mit der höchsten Wahrscheinlichkeit einer lymphatischen Metastasierung und dessen selektive histopathologische Aufarbeitung. Die SLNB schließt die „Detektion“ des SLN mit ein: Die „*Sentinel-Lymphknoten-Detektion*“ beschreibt die Identifikation und Lokalisation des(r) ersten drainierenden Lymphabflussstation(en) in vivo

1.4.2.3 Detektionsrate

Detektionsrate: $\frac{\text{Anzahl der Detektionsversuche mit Auffinden eines SLN} \times 100}{\text{Anzahl der Detektionsversuche}}$

Die Detektionsrate gibt die Rate der erfolgreichen SLN-Detektionen wieder, d. h. den Anteil der Detektionen, bei denen mindestens ein SLN gefunden wurde (in %). Die Detektionsrate ist unabhängig von Befall oder Nicht-Befall des SLN. Sie hat keine Aussagekraft hinsichtlich des Nodalstatus, sondern gibt lediglich an, in wievielen Fällen überhaupt ein SLN gefunden wurde.

1.4.2.4 Sensitivität

Sensitivität: $\frac{\text{Anzahl der Patienten mit positivem SLN} \times 100}{\text{Anzahl der Patienten mit positivem und mit falsch-negativem SLN}}$

Die Sensitivität gibt die Rate der nodal positiven Patienten an, bei denen auch der SLN einen Tumorzellbefall aufweist, d. h. den Prozentsatz der richtig erkannten Patienten mit lymphatischer Metastasierung. Die Sensitivität ist dabei – im Gegensatz zur Aussagegenauigkeit – unabhängig von der Prävalenz nodal positiver Fälle.

| | |
|----------------|------------------------------------|
| Positiver SLN: | SLN mit nachgewiesenem Tumorbefall |
| Negativer SLN: | Tumorfreier SLN |

Folgende Größen werden daraus abgeleitet:

| | |
|-----------------------------|--|
| Rate falsch-negativer SLNB: | 100% – Sensitivität |
| Richtig negativer SLN: | Tumorfreier SLN, alle Non-SLN sind ebenfalls tumorfrei |
| Falsch-negativer SLN: | Tumorfreier SLN, aber ein oder mehrere Non-SLN sind befallen |

Beide Angaben (*richtig negativ* und *falsch negativ*) setzen selbstverständlich eine Lymphknotendisektion der Region zusätzlich zur SLNB voraus.

Sowohl *Sensitivität* als auch die *Rate falsch-negativer SLNB* charakterisieren am besten die Wertigkeit der SLNB zur Erkennung von Lymphknotenmetastasen, da sie ausschließlich von der richtigen Vorhersage des positiven Nodalstatus abhängen, d. h. der richtigen Erfassung von Patienten mit Tumorbefall

Weniger aussagekräftig, aber insbesondere in älteren Studien häufig verwendet ist der Begriff der „Vorhersagegenauigkeit“ (engl.: „accuracy“):

1.4.2.5 Vorhersagegenauigkeit: („accuracy“):

Accuracy:
$$\frac{\text{Anzahl der richtigen Vorhersagen hinsichtlich des Nodalstatus} \times 100}{\text{Anzahl der Patienten mit detektiertem SLN}}$$

Die Vorhersagegenauigkeit ist insofern kein objektives Maß für die Validität der SLNB, als sie auch nodal negative Patienten miteinbezieht, die ja selbst durch eine „blinde Biopsie“ immer korrekt erfasst werden. Die Aussagegenauigkeit hängt damit sehr stark vom Anteil der nodal positiven Patienten im jeweiligen Krankengut ab (Prävalenz). Beispielsweise beträgt die Vorhersagegenauigkeit in einem Patientengut von 100 Patienten mit 5 nodal positiven Patienten bei völligem Versagen der Methode (keine der 5 Metastasen entdeckt) immer noch 95%, während die Sensitivität 0 und die Rate falsch-negativer Patienten 100% ist.

1.4.2.6 Upstaging

Upstaging:
$$\frac{\text{Anzahl der Patienten mit MM/ITC im SLN nach intensivierter Aufarbeitung} \times 100}{\text{Anzahl der Patienten im Stadium II nach Routine H\&E-Färbung}}$$

1.3 Methodisches Vorgehen

Die derzeit etablierten Techniken sind die Farbstoffmethode und die Radiokolloidmethode.

1.3.1 Farbstoffmethode

Das Prinzip der *Farbstoffmethode* besteht in der Regel aus folgenden Schritten (nach²⁹):

- Intraoperative, peritumorale Farbstoffinjektion
- Verfolgen der blau gefärbten Lymphbahn bis zu(m) den ersten blau gefärbten Lymphknoten wenige Minuten nach Injektion, bei Mammakarzinom und Melanom durch kurzstreckige, chirurgische Lymphbahnpräparation, evtl. nach separater Inzision; bei gastrointestinalen Tumoren sind die angefärbten Lymphbahnen bzw. die Lymphknoten entweder rein visuell nachzuvollziehen oder müssen durch Inzision des Peritoneums sichtbar gemacht werden) (Abb. 9a und b)
- selektive Entnahme oder Markierung der(s) ersten angefärbten Lymphknotens und separate, intensivierte histopathologische Untersuchung

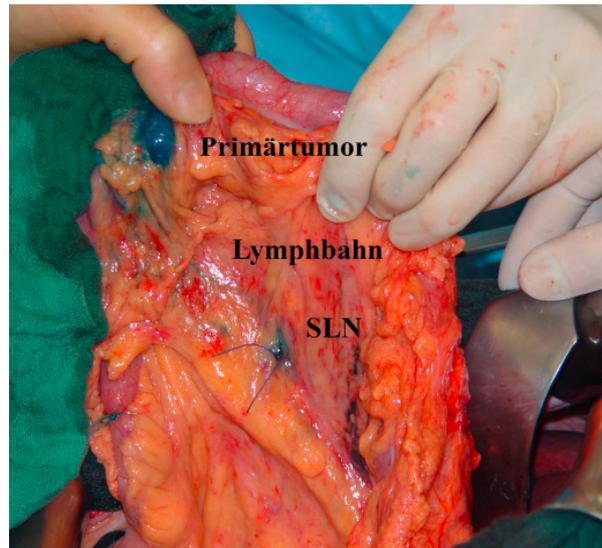
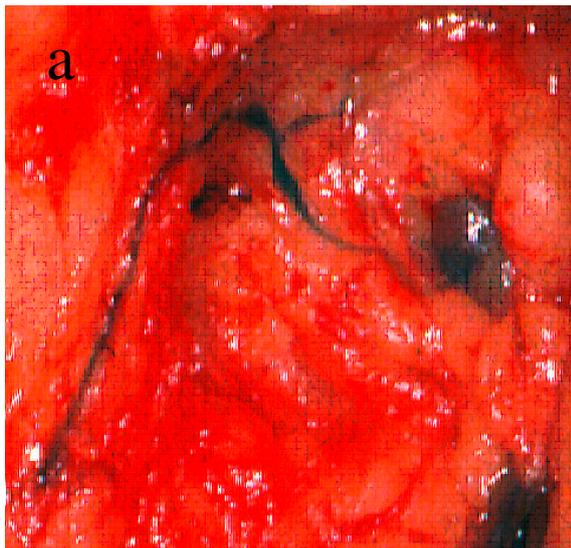


Abbildung 9a und b: Blau gefärbte Lymphbahnen mit Einmündung in einen Sentinel Lymphknoten

Die *Vorteile der Farbstofftechnik* sind:

- geringer logistischer Aufwand,
 - geringer zeitlicher Aufwand,
 - geringer finanzieller Aufwand,
- da alle Schritte intraoperativ innerhalb weniger Minuten erfolgen und materialtechnisch lediglich einige Milliliter Farbstoff erforderlich sind.

Nachteile der Farbstofftechnik sind

- geringes Zeitfenster, da die angefärbten Lymphknoten sich nach gewisser Zeit wieder entfärben
- schlechte Sichtbarkeit der Lymphbahn und –knoten bei adipösen Patienten insbesondere bei der Anwendung im GI-Trakt
- die –im Vergleich zur Radiokolloidmethode- häufigeren allergischen Reaktionen
- die -nach eigener Erfahrung und Sichtung der Literatur anzunehmende- längere Lernphase
- die schlechtere Darstellung aberranter Lymphabflusswege
- die wegen rascher Entfärbung der Lymphknoten fehlende Möglichkeit, den(die) SLN postoperativ am Präparat sicher zu detektieren

Bei kutanen Tumoren und beim Mammakarzinom ist aufgrund des gesondert notwendigen Zugangs zu den regionären Lymphabflußwegen das chirurgische Trauma bei der Präparation der Lymphbahn meist größer, als bei der Radiokolloidmethode. Zudem kann bei diesen Tumorentitäten eine kosmetisch störende Färbung der Haut längere Zeit verbleiben.

1.3.2 Radiokolloidmethode

Das Prinzip der *Radiokolloidmethode* besteht in der Regel aus folgenden Schritten:

- Präoperative peritumorale Injektion des Radiokolloids (meist am Vortag der OP.)
- Optional präoperative Lymphszintigraphie („lymphatic mapping“)
(Abbildung 10a und b)
- Intraoperatives Aufsuchen des Radiokolloid-speichernden Lymphknotens mit der Hand- γ -Sonde
- Selektive Entnahme des(r) Radiokolloid-speichernden SLN zur separaten, intensivierten histopathologischen Untersuchung (Abb. 11a und b)
- Kontrolle des Situs auf Restaktivität nach SLNB bzw. auf iuxtaregionale Speicherherde (ggfs. Detektion aberranter Lymphabflusswege)

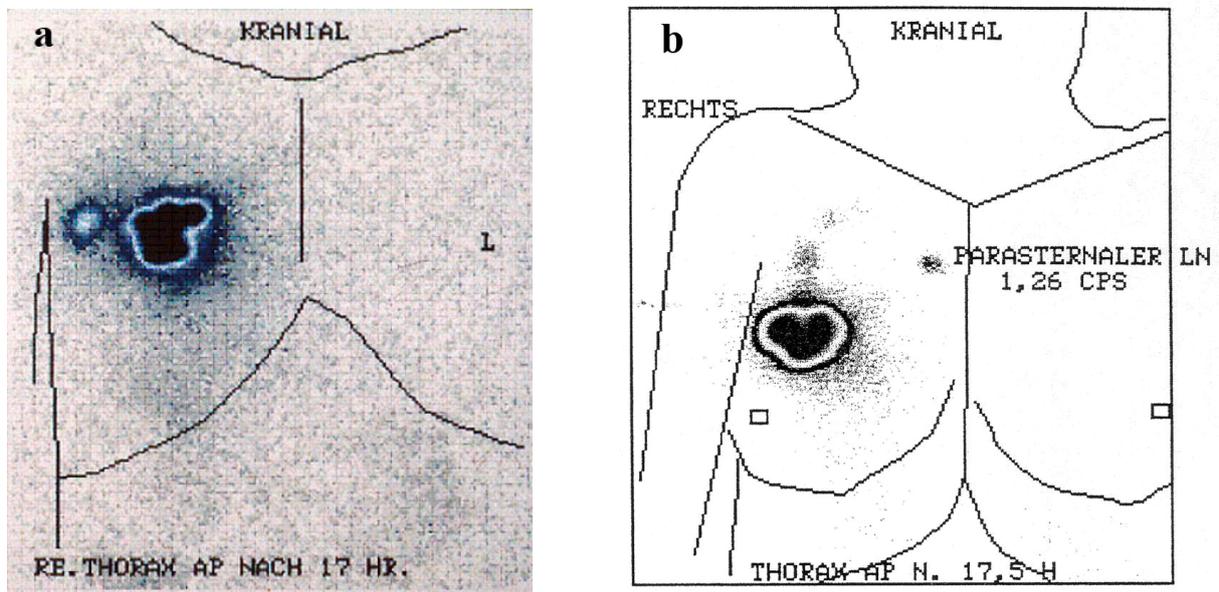


Abbildung 10a und b: Lymphszintigraphie mit axillärem (a) und parasternalem (b) SLN bei Mammakarzinom rechts

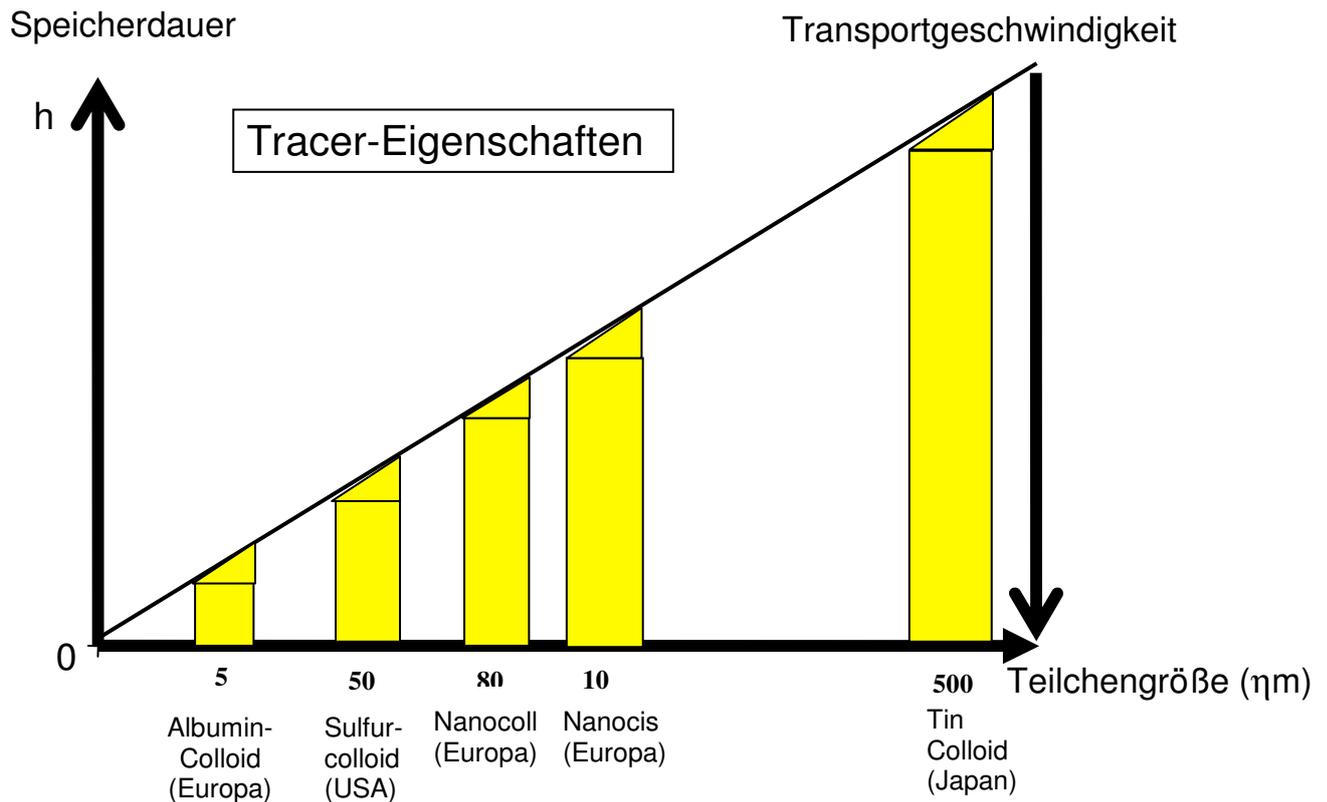


Abbildung 11a und b: Intraoperative SLN-Identifikation (a) einschließlich ex-vivo-Test (b) mit der γ -Handsonde

Die Radiokolloidmethode ist also in der Regel eine Zweischritt-Methode, die meist an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt wird.

1.3.3 Grundlagen der Methodik und Methodenvergleich

Hinsichtlich spezifischer biophysikalisch-chemischer Eigenschaften der Substanzen, insbesondere hinsichtlich der Transportmechanismen im lymphatischen System liegen noch wenig detaillierte Erkenntnisse vor. Grundsätzlich gilt: je kleiner die Partikel der verwendeten Substanz sind, desto schneller werden sie ins Lymphsystem aufgenommen und darin transportiert, aber desto kürzer ist auch die Speicherdauer der Substanz in einem Lymphknoten. Große Partikel zeigen hingegen eine deutlich langsamere „Clearance-Rate“ und eine langsamere Akkumulation, verbunden mit einer längeren Einlagerung in den Lymphknoten³⁰ (Grafik 1).



Grafik 1: Eigenschaften der Radiokolloidtracer in Abhängigkeit von der Teilchengröße

Die Vorteile der Radiokolloidmethode sind:

- Detektion des Radiokolloid-speichernden SLN auch durch die Haut oder dickere Fettschichten. Hierdurch wird das chirurgische Trauma der Lymphknotenentnahme minimiert
- Orientierendes Lymphatic mapping durch präoperative Lymphszintigraphie
- Langes Zeitfenster durch vergleichsweise lange Radiokolloidspeicherung in den Lymphknoten, dadurch
- Detektion des Lymphknotens ohne Zeitdruck
- Ex-vivo-SLNB am Resektionspräparat gut möglich
- relativ einfaches Erlernen der Technik

Nachteile der Radiokolloidmethode sind

- hoher logistischer Aufwand durch Zwei-Schritt-Methode und restriktive gesetzliche Bestimmungen bei der Handhabung von Radioaktivität
- relativ hoher Kostenaufwand (Geräteanschaffung, Radiokolloid, Nuklearmedizin)
- Überstrahlungseffekt zwischen Primärtumor und sehr nahe gelegenen Sentinel-Lymphknoten, macht die Methode für manche Tumorentitäten ungeeignet.

| | <u>Farbstoff</u> | <u>Radiokolloid</u> |
|------------------------------------|--|-----------------------------|
| Zeitplan | einzeitig | mehrzeitig |
| Kosten, Logistik | niedrig | hoch |
| Lernphase | länger | kürzer |
| Operatives Trauma | größer | kleiner |
| Allergische Reaktion | ja | nicht bekannt |
| Alternative Lymphabflußwege | eingeschränkt | ja |
| Ex vivo-Detektion | nein | ja |
| Spezifische Probleme | kurzes Zeitfenster Blaufärbung der Haut | Überstrahlungseffekt |

Tabelle 1: Vergleich der Radiokolloid- und der Farbstoffmethode zur SLN-Detektion
SLN: Sentinel-Lymphknoten

Bezüglich des Einsatzes verschiedener Kolloidtracer bestehen international Unterschiede: In Japan ist das relativ große $^{99m}\text{Tc-Sn}$ Kolloid („tin colloid“, $\sim 500 \text{ nm}$) am häufigsten in Gebrauch³¹, während in den USA das kleinere Tc-Sulfur-Kolloid (ca. $\sim 50 \text{ nm}$)³² und in Europa meist Tc-Albumin-Kolloid (Nanocoll®, $\sim 80 \text{ nm}$) oder Nanocis® ($\sim 100 \text{ nm}$)^{33,34} zur Anwendung kommen.

Die länderspezifischen Unterschiede in der Tracerauswahl sind allerdings eher auf die verschiedenen Zulassungsregelungen als auf unterschiedliche biophysikalische Eigenschaften zurückzuführen. Dennoch haben die Unterschiede hinsichtlich Transport und Speicherung im Lymphknoten einen entscheidenden Einfluß auf die Vorgehensweise bei den verschiedenen Organumoren. Für Radiokolloide wurde eine aktive Aufnahme und Speicherung in den Lymphknoten durch Antigen-präsentierende Zellen nachgewiesen, während die Mechanismen für Farbstoff noch nicht eindeutig geklärt sind. Allerdings werden Farbstoffe in der Regel deutlich schneller transportiert und in den Lymphknoten akkumuliert als Kolloide, allerdings auch deutlich schneller „ausgewaschen“. Als Farbstoffe wurden verschiedene Substanzen eingesetzt, u. a. Indocyanin-Grün^{35,36}, Isosulfan-Blau (Lymphazurin®)³⁷ und Patentblau

V^{26,28,38-40}. In Deutschland ist derzeit lediglich Patentblau V als Lymphographie-Farbstoff zugelassen.

1.4 Fragestellung

Folgende zentrale Fragestellungen ergaben sich aus den ersten Erfahrungen Mitte der 90er Jahre im Zusammenhang mit der SLNB:

- Praktikabilität und Wertigkeit der Methode in der klinischen Anwendung, insbesondere beim Mammakarzinom
- Standardisierung von Indikationsstellung und Technik im Hinblick auf einen breiten klinischen Einsatz beim Mammakarzinom
- Identifizierung von Mikrometastasen oder isolierten Tumorzellen im SLN und deren klinische Wertigkeit im Vergleich zu anderen Prognoseparameter
- Wertigkeit der Methode für weitere Tumorentitäten, insbesondere im Gastrointestinaltrakt einschließlich des Analkanals
- Bedeutung des SLN für die Erforschung lymphatischer Metastasierung

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.1 Sentinel lymph node dissection in breast cancer

Bembenek A., Reuhl T., Markwardt J., Schneider U., Schlag P. M.

Swiss Surg 1999; 5: 217-221

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.2 Sentinel lymphadenectomy – Ready for clinical routine ?

Bembenek A., Schlag P. M.

Onkologie 2000; 23: 408-409

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.3 A concept for the clinical implementation of sentinel lymph node biopsy in patients with breast carcinoma with special regard to quality assurance

Kuehn T., Bembenek A., Decker T., Munz D. L., Sautter-Bihl M.-L., Untch M., Wallwiener D.

Cancer 2005; 103(3): 451-461

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.4 Impact of patient- and disease-specific factors on SLNB in breast cancer patients. Are current guidelines justified?

Bembenek A., Fischer J, Albrecht H., Kemnitz E., Gretschel S., Schneider U., Dresel S., Schlag P.M.

World J Surg 2007 31: 267-275

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.5 Long-term morbidity of patients with early breast cancer after sentinel lymph node biopsy compared to axillary lymph node dissection

Schulze T., Mucke J., Markwardt J., Schlag P. M., Bembenek A.

J Surg Oncol 2006; 93(2): 109-119

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.6 Immunohistochemical detection of lymph-node metastases

Bembenek A., Haensch W., Schneider U.,
Markwardt J., Schlag P. M.

Lancet 2000; 335: 144-155

2 Publikationen

2.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

2.1.7 Localisation of small tumor deposits in the SLN predicts Non-SLN metastases in breast cancer patients

Li J., Haensch W., Kemmner W., Warnick P., Fischer J., Schlag P.M., Bembenek A.

Eur J Surg Oncol 2007 (in press)

2 Publikationen

2.2 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

2.2.1 Optimierung des Staging beim Kolonkarzinom durch Sentinel-Lymphknoten-Biopsie

Bembenek A., Schneider U., Gretschel S., Ulmer C., Schlag P. M.

Chirurg 2005; 76: 58-67

2 Publikationen

2.2 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

2.2.2 Sentinel lymph node biopsy in colon cancer-
a prospective Multicenter Trial

Bembenek A. for the German Study Group

Ann Surg 2007; 245: 858-863

2 Publikationen

2.2 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

2.2.3 Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and non-sentinel lymph nodes of colon cancer patients

Bembenek A., Schneider U., Gretschel S., Fischer J., Schlag P. M.

World J Surg 2005; 29(9): 1172-1175

2 Publikationen

2.2 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

2.2.4 Sentinel lymph node biopsy in rectal cancer – Not yet ready for routine clinical use

Bembenek A., Rau B., Moesta T., Markwardt J., Ulmer C., Gretschel S., Schneider U., Slisow W., Schlag P. M.

Surgery 2004; 135(4): 498-505, 2004

2 Publikationen

2.3 Das Sentinel Lymphknoten-Konzept in der immunologischen Forschung

2.3.1 Presence of DC-lamp+-dendritic cells in sentinel and non-sentinel lymph nodes of breast cancer patients

Bembenek A., Li J., Loddenkemper C., Kemmner W., Stein H., Wernecke K.D., Schlag P.M.

Eur J Surg Oncol 2007 (in press)

3 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.1 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

Seit 1999 zeigten eigene prospektive Studien die hohe Vorhersagegenauigkeit der Radio-kolloidmethode hinsichtlich des Lymphknotenstatus beim Mammakarzinom und beschrieben zusätzlich den Nachweis eines signifikanten Prozentsatz an Mikrometastasen und isolierten Tumorzellen durch die intensivierete histopathologische Aufarbeitung des SLN. Nach Bestätigung dieser überzeugenden Ergebnissen in einer großen Zahl internationaler Studien^{33,41,42} stellte sich die Frage, ob die SLNB beim Mammakarzinom klinisch eingesetzt werden könne, d. h., ob die Indikation zur Axilladisektion vom Ergebnis der SLNB abhängig gemacht werden dürfe. In den eigenen Publikationen war gezeigt worden, daß die SLNB hierzu im klinischen Alltag einen wesentlichen Beitrag liefert, aber auch welche Beschränkungen bei der Methodenanwendung beachtet werden sollten. Mittlerweile ist der damals vorgeschlagene Algorithmus in die klinische Praxis umgesetzt (**Abschnitt 2.1.1**).

Parallel dazu war insbesondere in Deutschland immer wieder die Durchführung randomisierter Studien gefordert und eine entsprechende Studie begonnen worden⁴³, um die Gleichwertigkeit eines Behandlungskonzeptes, das auf der SLNB beruht, zum Standardvorgehen einer routinemäßigen Axilladisektion zu beweisen. Das vorliegende, eigene Editorial (**Abschnitt 2.1.2**) argumentierte, bei der Evaluierung der SLNB liege die besondere Situation vor, daß die Aussagekraft des SLN als Indikator des Lymphknotenstatus durch eine „back-up“- Axilladisektion bereits hinreichend überprüft worden sei und somit ein weiterer Erkenntnisgewinn durch weitere Studien nicht zu erwarten wäre. Dagegen würden beim Festhalten an der Durchführung einer solchen, mindestens 5-7 Jahre beanspruchenden Studie einer Vielzahl von nodal negativen Patienten die Vorteile einer verminderten Morbidität bei alleiniger Durchführung einer SLNB vorenthalten.

Entsprechend der in **2.1.2** beschriebene Argumentation gewann der klinische Einsatz der SLNB zunehmend an Bedeutung und erfuhr schließlich seine definitive Legitimation in Deutschland durch die Erstellung eines interdisziplinären Konsensus, der durch die Deutsche Gesellschaft für Senologie initiiert und durch die eigene Mitarbeit wesentlich mitgestaltet wurde (**Abschnitt 2.4**). Darin wurde nicht nur die Anwendung der Methode in der klinischen Praxis legitimiert, sondern erstmals auch die erforderlichen Voraussetzungen zur Implementierung und technischen Durchführung definiert.

Nach der national und international weitreichenden Akzeptanz der Methode als klinischer Standard beim Mammakarzinom, treten nun verstärkt Detail-Fragen, insbesondere hinsichtlich der Spezifizierung der Indikationsstellung in den Vordergrund. Eine eigene Studie (**Abschnitt 2.1.4**) an 456 Patientinnen mit primärem, invasiven Mamakarzinom zeigte, dass für die Detektionsrate mehrere Faktoren Bedeutung haben. Insbesondere stehen dabei der body-mass-index (BMI) und die Anzahl der befallenen Lymphknoten im Vordergrund, die in einer multivariaten Analyse die engste (inverse) Korrelation zur Detektionsrate aufwiesen. Zur Rate falsch-negativer Befunde wies lediglich die Tumorgröße (kategorisiert als pT-Klassifikation) eine unabhängige, inverse Korrelation auf. Dabei schien die Rate falsch negativer Befunde ab einer Tumorgröße über 2cm (pT2) verstärkt und in einem klinisch kaum vertretbaren Maße anzusteigen. Keine Bedeutung in dieser Hinsicht ergab sich für eine Voroperation wegen Brusterkrankungen oder für das Vorliegen eines bi- oder multifokalen Tumorwachstums. Palpatorisch auffällige Lymphknoten wiesen eine enge, allerdings statistisch nicht ganz signifikante Korrelation ($p=0,054$) zur Rate falsch-negativer Befunde wie auch zur Detektionsrate auf. Daraus kann geschlossen werden, dass bestehende Handlungsrichtlinien dahingehend überprüft werden sollten, ob auch die Indikation zur SLNB auch auf Patienten ausgeweitet werden kann, die wegen benigner Brusterkrankungen voroperiert sind oder bei denen der Verdacht auf multifokales/ -zentrisches Tumorwachstum vorliegt. Auch bei alten und adipösen Patienten kann dieser Eingriff sicher durchgeführt werden, allerdings ist hierbei mit einem erhöhten Risiko nicht identifizierbarer SLN zu rechnen. Möglicherweise ist dies durch eine Alters- und Gewichts-bedingte Rarefizierung der Lymphgefäße bedingt. Dagegen sollte die klinische Entscheidung zur Axilladisektion nur bis zu einer Tumorgröße von ca. 2cm vom Ergebnis der SLNB abhängig gemacht werden. Patienten mit größeren Tumoren und Patienten mit palpablen axillären Lymphknoten sollten vorrangig einer Axilladisektion unterzogen werden, wobei die SLNB dennoch zur Optimierung des Stagings gleichzeitig angewandt werden kann.

Aufgrund des frühen klinischen Einsatzes der SLNB bei Patientinnen mit Mammakarzinom in der eigenen Klinik, lagen uns relativ bald Ergebnisse zum mittel- und langfristigen Outcome nach SLNB alleine im Vergleich zur Axilladisektion bei nodal negativen Patienten vor (**Abschnitt 2.1.5**). Die Ergebnisse der eigenen Nachbeobachtungsstudie zeigen die Vorteile der Methode hinsichtlich Morbidität und Lebensqualität gegenüber der Vorgehensweise mit Axilladisektion ohne Einschränkung der lokalen Tumorkontrolle (Kein Rezidiv nach einer medianen Beobachtungszeit von 50 Monaten).

Noch nicht definitiv geklärt ist die Bedeutung des Nachweises von Mikrometastasen oder isolierten Tumorzellen im SLN. Gemäß der derzeit vorliegenden Evidenz-basierten Daten zum Mammakarzinom erscheint eine prognostische Bedeutung dieser kleinen Tumorzellverbände in den Lymphknoten wahrscheinlich. Gleiches gilt für den Nachweis epithelialer Zellen im Knochenmark. Allerdings ergab eine eigene, vergleichende Untersuchung von 191 Patienten, daß beide Formen der sog. „minimal residual disease“ offensichtlich voneinander unabhängige Phänomene sind (**Abschnitt 2.1.6**).

In der klinischen Praxis wiederum stellte sich bei Nachweis von Mikrometastasen oder isolierten Tumorzellen im SLN die Frage, ob eine komplette Axilladissektion erfolgen muß oder nicht. Die aktuellen Richtlinien (siehe 2.4) sehen für Mikrometastasen eine Axilladissektion (oder alternativ eine Radiatio) vor –entsprechend der Vorgehensweise für Makrometastasen– während sie bei Vorliegen isolierter Tumorzellen keine weitere Behandlung empfehlen.

Allerdings wurde bei Vorliegen isolierter Tumorzellen im SLN das gleichzeitige Vorhandensein von Makrometastasen in Non-SLN in 15-30% der Patienten beschrieben⁴⁴, was sich im eigenen Patientengut bestätigte. Dieser Umstand veranlaßte uns, zu überprüfen, ob sich bei Patienten mit MIC/ITC im SLN Faktoren identifizieren lassen, welche das Vorliegen von Makrometastasen in Non-SLN zuverlässig anzeigen und damit eine weitere Therapie der Axilla oder auch eine systemischen Therapie indizieren können (**Abschnitt 2.1.7**). Dabei fanden wir, dass die Lokalisation der MM/ITC im SLN (Parenchym vs. Randsinus/Gefäß) von allen Parametern am stärksten mit dem Auftreten von Non-SLN-Metastasen korrelierte. Die Sensitivität, durch diesen Parameter Non-SLN-Metastasen zu erkennen, betrug in unserer Studie 89%, der negative prädiktive Wert zum Ausschluß solcher Metastasen 60%. Als weiterer signifikanter Risikofaktor für das Auftreten von Non-SLN-Metastasen erwies sich die pT-Kategorie, während für Grösse bzw. Durchmesser eines kleinen Tumorzellverbandes (Einteilung nach UICC in MIC/ITC⁴⁵) der Zusammenhang zur Non-SLN-Metastasierung nicht statistisch signifikant war ($p=0,09$). Diese Ergebnisse könnten zukünftig für eine optimierte Indikationsstellung zur Axilladissektion von wichtiger Bedeutung sein. Möglicherweise sind daraus auch für andere Tumorentitäten Erkenntnisse abzuleiten, die für die Handhabung kleiner Tumorzellabsiedelungen in Lymphknoten Bedeutung erlangen.

3.2 Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

Im Zuge der rasch wachsenden Bedeutung der SLNB für Patienten mit Mammakarzinom und malignem Melanom begann die Erprobung des Konzeptes für weitere Tumorentitäten, insbesondere des Gastrointestinaltraktes (GI-Traktes). Die meisten Ergebnisse hierzu wurden bis

dato für Patienten mit Kolon- und Rektumkarzinom publiziert, wobei die Rektumkarzinompatienten meist nur einen kleinen Teil des untersuchten Patientengutes ausmachten und nicht gesondert berücksichtigt waren. Daher waren die Ergebnisse bisher oft heterogen und müssen differenziert betrachtet werden. Viele Studien zeigten hohe Detektionsraten, die Ergebnisse zur Sensitivität (Erkennung einer Lymphknotenmetastasierung) waren dagegen sehr unterschiedlich. Während die amerikanischen Studiengruppen um Bilchik et al. (John Wayne Cancer Institute) und Saha et al. (Michigan University) wiederholt in größeren Studien über eine hohe Sensitivität zur Erkennung eines positiven Nodalstatus berichteten^{46,47}, fanden eine Vielzahl von kleineren Studien eine deutlich geringere Sensitivität^{48,49}. Allerdings gibt es nachhaltige Hinweise darauf, daß die SLNB -ungeachtet der Sensitivität zur Detektion von Makrometastasen- durch die intensiviertere histopathologische Untersuchung des SLN zu einer Verbesserung des Stagings führen kann⁵⁰. Die eigene Untersuchung an einem Kollektiv von ausschließlich Kolonkarzinompatienten (**Abschnitt 2.2.1**) zeigte, daß in über 30% der Patienten, die nach histopathologischer Routine-Untersuchung als Stadium II eingestuft wurden, Mikrometastasen oder isolierte Tumorzellen im SLN gefunden werden können. Die Detektionsrate dabei war hoch (>90%), die Sensitivität zur Erkennung von Makrometastasen lag mit knapp 80% niedriger als in den amerikanischen Studien, allerdings höher als in anderen Single-Center Studien.

Die erste größere Multicenterstudie zur SLNB beim Kolonkarzinom unter der Leitung der eigenen Klinik (Klinik für Chirurgie und Chirurgische Onkologie der Robert-Rössle-Klinik, Charité Campus Buch) mit n=315 Patienten bestätigte, dass die Erkennung des Nodalstatus durch SLNB mit den derzeit verfügbaren Methoden noch weit unter der klinisch zu fordernden Genauigkeit liegt (Sensitivität: 54%). Allerdings erbrachte diese Studie erstmals differenzierte Resultate hinsichtlich verschiedener Charakteristika, die mit den Resultaten der Methode korrelieren (**Abschnitt 2.2.2**). Untersucht wurden u. a. die Erfahrung der Untersucher im Umgang mit der Methode, patientenimmanente Faktoren wie Alter, Body-mass-Index (BMI) und Geschlecht sowie pathomorphologische Charakteristika der Tumorerkrankung. Dabei erwiesen sich in erster Linie der Body mass index (BMI) und die Erfahrung des Zentrums als die beiden wichtigsten Faktoren, die mit der Sensitivität bzw. der Detektionsrate korrelierten. Für schlanke Patienten mit einem BMI ≤ 24 , die in einem erfahrenen Zentrum untersucht worden waren, ergab sich eine Sensitivität von 88%, vergleichbar mit den Ergebnissen bei Patienten mit Mammakarzinom. Ein derartig starker Einfluß äußerer Faktoren spricht dafür, daß technische Unzulänglichkeiten die Sensitivität der Methode wesentlich

beeinflussen, so dass die Existenz eines prädiktiven SLN auch beim Kolonkarzinom trotz der bisherigen Ergebnisse nicht ausgeschlossen ist. Vielmehr bedarf es weiterer Untersuchungen mit verbesserter Methodik, um die klinische Wertigkeit der SLNB beim Kolonkarzinom hinreichend einschätzen zu können. Als weiteres wesentliches Ergebnis der Multicenterstudie ergab sich, daß auch im Multicenteransatz in mehr als 20% der Fälle zusätzliche Mikrometastasen oder isolierte Tumorzellen (MM/ITC) bei Patienten detektiert wurden, die nach der histopathologischen Routine-Untersuchung als Stadium I bzw. II (nodal negativ) klassifiziert worden waren. Welche klinische Bedeutung diese kleinen Tumorzellverbände besitzen, ist noch nicht geklärt, insbesondere ist unklar, ob diese Patienten einer adjuvanten Therapie - ähnlich der Patienten im Stadium III- bedürfen. Die Klärung kam bisher vor allem deshalb nicht zustande, weil die komplette Aufarbeitung aller Lymphknoten eines Präparates durch Stufenschnitte und IHC bis dato einen immensen zeitlichen und logistischen Aufwand bedeutet hat. Die SLNB ermöglicht nun die Identifikation von MMM/ITC durch Untersuchung einzelner Lymphknoten und stellt daher eine Methode dar, welche zur Klärung der o. g. Fragestellungen mit einem vertretbaren Aufwand herangezogen werden könnte.

Der relativ häufige Nachweis der kleinen Tumorzellverbände im SLN warf allerdings auch die Frage auf, ob diese Befunde nicht ein zufälliges Phänomen seien, das auch in beliebigen andern Non-sentinel-Lymphknoten zu finden wären oder durch Manipulation im Rahmen der SLNB iatrogen entstanden sein könnten. In einer eigenen Studie zur Beantwortung dieser Frage (**Abschnitt 2.2.3**) wurden 1011 Sentinel- und Non-Sentinel-Lymphknoten in gleicher Weise mittels Stufenschnitten und Immunhistochemie vollständig aufgearbeitet. Dabei zeigte sich nicht nur, dass der SLN für Mikrometastasen und isolierte Tumorzellen (MM und ITC) weitgehend repräsentativ ist und die höchste Wahrscheinlichkeit für das Auftreten dieser kleinen Tumorzellverbände besitzt, sondern auch, dass bei fehlendem Nachweis solcher Befunde im SLN das Vorhandensein von MM/ITC in anderen Lymphknoten sehr unwahrscheinlich ist.

Aus anatomischen, technischen und auch tumorbiologischen Gründen sollte bei klinischen Studien zum SLN-Konzept aus unserer Sicht zwischen Rektum- und Kolonkarzinom unterschieden werden. Beim Rektumkarzinom ist die SLN-Detektion intraoperativ aufgrund der anatomischen Verhältnisse im kleinen Becken technisch besonders anspruchsvoll. Zudem wird ein Großteil der Tumore erst in lokal fortgeschrittenem Stadium diagnostiziert und einer präoperativen Radiatio unterzogen, was den Lymphabfluß entscheidend beeinträchtigen kann. Entsprechend limitiert waren die bisher verfügbaren Erfahrungen zur SLNB bei Rektumkarzinompatienten. Eine eigene Studie (**Abschnitt 2.2.4**) stellte die erste Untersuchung zur SLNB ausschließlich an Rektumkarzinompatienten dar. Um ein möglichst langes Zeitfenster zur

Verfügung zu haben und damit die SLN am Resektat detektieren zu können, wurde die Radiokolloidmethode unter Einsatz des mit 100nm größten in Deutschland verfügbaren Radiokolloids (Nanocis[®]) durchgeführt. Die Ergebnisse verdeutlichen die o.g. Problematik. Trotz hoher Detektionsraten (>90%) konnte nur in knapp 50% der Fälle die vorhandenen Lymphknotenmetastasierung korrekt identifiziert werden. Lediglich für die kleine Subgruppe der pT2-Karzinome, die nicht vorbestrahlt worden waren, deutete sich –bei sehr geringer Fallzahl- eine akzeptable Sensitivität an. Ob neben den genannten ungünstigen tumorbiologischen und radiogenen Einflüssen auch die Tatsache der postoperativen, ex-vivo-Detektion einen negativen Einfluß auf die Sensitivität hatte, bleibt offen. Allerdings erscheint unter den gegebenen Bedingungen der breite Einsatz beim Rektumkarzinom derzeit nicht sinnvoll. Eine weitere Evaluierung der Methode könnte für die Subgruppe kleiner, nur lokal zu resezierender Karzinome durchaus sinnvoll sein. Allerdings sind hierzu weitere Innovationen in der Detektionstechnik erforderlich.

3.3 Das Sentinel-Lymphknoten-Konzept als Modell für immunologische Forschung

Die herausragende Rolle des Sentinel Lymphknoten SLN als Lymphknoten mit der höchsten Metastasierungswahrscheinlichkeit stellt einen vielversprechenden Ansatz für translationale immunologische Studien dar^{51,52}. In einer eigenen Studie an Mammakarzinom-Lymphknoten (**Abschnitt 2.3.1**) wurden SLN und Non-SLN von Patienten mit primärem Mammakarzinom hinsichtlich immunologischer Unterschiede untersucht. Dabei erfolgte eine Differenzierung der Patientinnen hinsichtlich des Ausmaßes der lymphatischen Metastasierung. Nach entsprechenden Voruntersuchungen wurde die Zelldichte reifer dendritischer Zellen (DC) als Surrogatmarker für die Funktionalität des Immunsystems im jeweiligen Lymphknoten gewählt. Nach immunohistochemischer Färbung mit einem Antikörper (DC-lamp, Immunotech, Paris, France) zur spezifischen Erfassung reifer dendritischer Zellen (DC) wurden quantitative Unterschiede in der Zahl DC-lamp-positiver Zellen mit Hilfe eines digitalen Bilderfassungssystems erfaßt. Nach Untersuchung von 114 SLN und 1258 korrelativen Non-SLN von 79 Patientinnen zeigte sich, daß in den SLN der Flächenanteil der DC-lamp+-Zellen signifikant höher lag als in den Non-SLN. Allerdings galt dies nur für nodal negative Patienten und Patienten mit Mikrometastasen bzw. isolierten Tumorzellen, während bei Vorliegen von Makrometastasen keine signifikanten Unterschiede nachweisbar waren. Die Studie unterstrich damit einerseits die besondere Rolle des SLN bei der DC-vermittelten Immunantwort und stützt andererseits die Annahme, daß diese in Abhängigkeit vom Ausmaß der Metastasierung verändert ist: Insbesondere bei Patienten ohne Lymphknotenmetastasen bzw.

beim Vorhandensein lediglich kleiner Tumorzellabsiedelungen in den Lymphknoten erscheint die DC-abhängige Immunantwort in den SLN intensiviert. Diese Ergebnisse könnten insbesondere im Zusammenhang mit der Entwicklung neuartiger, molekular zielgerichteter Therapieverfahren klinische Relevanz erlangen.

4 Wertung und Ausblick

Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Mammakarzinom

Nachdem in den ersten Studien (**Abschnitt 2.1.1**) der prädiktive Wert der SLNB hinsichtlich des Nodalstatus gezeigt werden konnte, zielten die Folgearbeiten auf die Anwendung der Methode in der klinischen Praxis. **Abschnitt 2.1.2** und **2.1.3** verdeutlichen den langwierigen, aber letztlich erfolgreichen Weg der Implementierung der Methode in die klinische Praxis sowie potentielle Modifikationsmöglichkeiten hinsichtlich der zukünftigen Indikationsstellung (**Abschnitt 2.1.4**). Die Nachbeobachtungsstudie am eigenen Patientengut (**Abschnitt 2.1.5**) verdeutlichte den Vorteil der SLNB gegenüber der bisherigen Vorgehensweise mit Axilladisektion durch den Nachweis einer signifikant verringerten Morbidität bei gleichwertiger lokaler Tumorkontrolle. Mit der letztlich bisher noch nicht hinreichend geklärten Frage nach der prognostischen Wertigkeit und der klinischen Bedeutung von Mikrometastasen oder isolierten Tumorzellen (MM/ITC) im SLN beschäftigten sich die Studie in **Abschnitt 2.1.6** und **2.1.7**. Dabei erwiesen sich Zytokeratin-positive Zellen im Knochenmark als vom Lymphknotenbefall unabhängiges Phänomen (**Abschnitt 2.1.6**). Zudem identifizierten wir die Lokalisation kleiner Tumorzellabsiedelungen (Parenchym vs. Randsinus) als neuen Prädiktor für das Vorliegen von Non-SLN-Metastasen (**Abschnitt 2.1.7**), was bei der Indikationsstellung zur Lokaltherapie der Axilla hilfreich sein kann.

Sentinel Lymphknoten-Konzept beim Kolon- und Rektumkarzinom

Für Patienten mit Kolonkarzinom vermag die SLNB den Nachweis von Mikrometastasen oder isolierten Tumorzellen bei ansonsten metastasenfrem Patienten bedeutend zu erleichtern (**Abschnitt 2.2.1** und **2.2.3**) und macht damit potentiell die Klärung der prognostischen Bedeutung dieser Befunde in einer großen Studie praktikabel. Diese zusätzlichen Informationen könnten die Indikationsstellung zur adjuvanten Therapie optimieren, insbesondere für Patienten, die nach Routine-Histopathologie in das Stadium II eingeordnet

werden. Allerdings zeigte sich, dass der prädiktive Wert im Hinblick auf den Nodalstatus der Patienten noch nicht ausreichend hoch ist, um eine limitierte chirurgische Vorgehensweise beim Kolonkarzinom davon abhängig zu machen. In der durch die Robert-Rössle-Klinik geleiteten Multicenterstudie fand sich, dass insbesondere die Erfahrung der Untersucher und der Body-mass-Index der Patienten mit dem Erfolg der Methode korrelieren (**Abschnitt 2.2.2**). Die ursächlichen Mängel bei der Durchführung der Methode müssen behoben werden, bevor eine zuverlässige Vorhersage des Nodalstatus möglich erscheint. Beim Rektumkarzinom ist die technische Durchführung problematisch, zudem verändert bei der Mehrzahl der Patienten eine neoadjuvante Radiatio den Lymphabfluß, so dass derzeit für diese Tumorentität auf absehbare Zeit keine klinische Anwendung der SLNB in Aussicht ist (**Abschnitt 2.2.4**).

Das Sentinel-Lymphknoten-Konzept als Modell für immunologische Forschung

Der Sentinel-Lymphknoten ist durch seine Sonderstellung innerhalb des lymphatischen Systems von zunehmendem Interesse für immunologische Untersuchungen. In einer eigenen immunhistologischen Vergleichsstudie deutete sich eine erhöhte Immunkompetenz der SLN gegenüber den Non-SLN von Mammakarzinompatientinnen an, insbesondere bei fehlender oder bei Frühstadien lymphatischer Metastasierung (**Abschnitt 2.3.1**).

Ausblick

Während beim Mammakarzinom vor allem die Indikationsstellung weiter optimiert und angepasst werden muß, stehen bei gastrointestinalen Tumoren vor allem die Überwindung der Lernkurve und die Optimierung der vorhandenen Technologie im Vordergrund, um einen klinischen Einsatz langfristig zu ermöglichen. Für alle Tumorentitäten gilt, dass die SLNB zu einem vermehrten Nachweis von Mikrometastasen und isolierten Tumorzellen bei Patienten im Stadium II führt, was einerseits das Problem der praktisch-klinischen Konsequenz aufwirft, aber andererseits auch die Chance bietet, die prognostische und letztlich auch klinische Bedeutung dieser Tumorzellverbände definitiv zu klären. Schließlich verspricht der SLN als „Tor der Metastasierung“ im Hinblick auf die Entstehung lymphogener Metastasierung in molekularbiologischer wie auch in immunologischer Hinsicht ein Fokus grundlagenorientierter Forschung zu werden.

5 Literatur

1. Jamieson JK, Dobson JF. The lymphatic system of the caecum and appendix. *The Lancet* 1907;1137-1142.
2. Jamieson JK, Dobson JF. The lymphatics of the colon with special reference to the operative treatment of cancer of the colon. *Ann Surg* 1909;1077-1090.
3. Joseph N, Sigurdson E, Hanlon A, Wang H, Mayer RJ, MacDonald J, Catalano PJ, Haller DG. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. *Annals of Surgical Oncology* 10[3], 213-218. 2003.
4. LeVoyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AR, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, Haller DG. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol* 21, 2912-2919. 2003.
5. Tepper JE, O'Connell MJ, Niedzwiecki D, Hollis D, Compton C, Benson III AB, Cummings B, Gunderson L, Macdonald JS, Mayer RJ. Impact of number of lymph nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 19, 157-163. 2001.
6. Prandi M, Lionetto R, Bini A, Francioni G, Acarpio G, Anfossi A, Ballario E, Becchi G, Bonilauri S, Carobbi A, Cavaliere P, Garcea D, Guiliani L, Morziani E, Mosca F, Mussa A, Pasqualini M, Poddie D, Tonetti F, Zardo L, Rossi R. Prognostic evaluation of Dukes B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy. *Annals of Surgery* 234[4], 458-463. 2002.
7. Weir L, Speers C, D'yachkova Y, Olivotto IA. Prognostic significance of the number of axillary lymph nodes removed in patients with node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 20, 1793-1799. 2002.
8. Sobin LH, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumors*. New York: Wiley-Liss; 2005.

9. Jamieson JK, Dobson JF. The lymphatic system of the stomach. *The Lancet* 1907;1061-1066.
10. Jamieson JK, Dobson JF. The lymphatics of the colon. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 1909; 2:139-174.
11. Drinker CK, Field ME. *Lymphatics, lymph and tissue fluid*. London: 1933.
12. Braithwaite LR. The flow of the lymph from the ileocaecal angle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer. *The British Journal of Surgery* 1923; 11:7-25.
13. Weinberg J, Greaney EM. Identification of regional lymph nodes by means of a vital staining dye during surgery of gastric cancer. *Surg Gynecol Obstet* 1950; 90:561-567.
14. Grant RN, Tabah EJ, Adair FE. The surgical significance of the subareolar lymph plexus in cancer of the breast. *Surgery* 1952; 33:71-78.
15. Halsell JT, Smith JR, Bentlage CR et al. Lymphatic drainage of the breast demonstrated by vital dye staining and radiology. *Ann Surg* 1965; 162:221-226.
16. Hultborn KA, Larsson L-G, Ragnhult I. The lymph drainage from the breast to the axillary and parasternal lymph nodes, studied with the aid of colloidal au198. *Acta Radiol* 1955; 43:52-64.
17. Abbes M. Experience with Lymphangiography in the surgical management of breast cancer. *International Surgery* 1967; 47:243-245.
18. Kazem I, Antoniades J, Brady LW et al. Clinical evaluation of lymph node scanning utilizing colloidal gold 198. *Radiology* 1968; 90:905-911.
19. Goldman LI, Lowe S, Al-Saleem T. Effects of fluorouracil on intestinal anastomoses in the rat. *Arch Surg* 1969; 98:303-304.
20. Cox KR, Hare WS, Bruce PT. Lymphography in melanoma. *Cancer* 1966; 19:637-647.
21. Gould EA, Winship Th, Philibin PH et al. Observations on a " sentinel node " in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13:77-78.

22. Koehler PR. Current status of lymphography in patients with cancer. *Cancer* 1976; 37:503-516.
23. Cabanas RM. A new approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39:456-466.
24. Fowler JE. Sentinel lymph node biopsy for staging penile cancer. *Urology* 1984; 23:352-353.
25. Sullivan DC, Croker BP, Harris CC et al. Lymphoscintigraphy in malignant melanoma: 99m-Tc antimony sulfur colloid. *Am J Roentgenol* 1981; 137:847-851.
26. Morton DL, Wen DR, Wong JH et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127:392-399.
27. Krag DN, Weaver DL, Alex JC et al. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1993; 2:335-340.
28. Giuliano AE, Dale PS, Turner RR et al. Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg* 1995; 222:994-401.
29. Schlag PM. Sentinel Lymphknoten Biopsie. Landsberg: ecomed Verlagsgesellschaft; 2001.
30. Alazraki NP, Styblo T, Grant SF et al. Sentinel node staging of early breast cancer using lymphoscintigraphy and the intraoperative gamma detecting probe. *Radiol Clin North Am* 2001; 39:947-956.
31. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M et al. The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am* 2000; 80:1799-1809.
32. Aikou T, Higashi H, Natsugoe S et al. Can sentinel node navigation surgery reduce the extent of lymph node dissection in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:90-93.
33. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997; 349:1864-1867.

34. Bembenek A, Schlag PM. Lymph node dissection in breast cancer. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 385:236-245.
35. Hiratsuka M, Miyashiro I, Ishikawa O et al. Application of sentinel node biopsy to gastric cancer surgery. *Surgery* 2001; 129:335-340.
36. Ichikura T, Morita D, Uchida T et al. Sentinel node concept in gastric carcinoma. *World J Surg* 2002; 26:318-322.
37. Saha S, Bilchik A, Wiese D et al. Ultrastaging of colorectal cancer by sentinel lymph node mapping technique- a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:94-98.
38. Joosten JJA, Strobbe LJA, Wauters CAP et al. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1999; 86:482-486.
39. Merrie AEH, van Rij AM, Phillips LV et al. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44:410-417.
40. Palaia R, Cremona F, Delrio P et al. Sentinel node biopsy in gastric cancer. *J Chemotherapy* 1998; 11:230-231.
41. Krag D, Harlow S, Weaver D et al. Technique of sentinel node resection in melanoma and breast cancer: probe-guided surgery and lymphatic mapping. *Eur J Surg Oncol* 1998; 24:89-93.
42. Giuliano AE, Jones RC, Brennan MF et al. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15:2345-2350.
43. Schirrmester H, Kotzerke J, Vogl F et al. Prospective evaluation of factors influencing success rates of sentinel node biopsy in 814 breast cancer patients. *Cancer Biotherapy&Radiopharmaceuticals* 2004; 19:784-790.
44. Kamath V, Giuliano R, Dauway EL et al. Characteristics of the sentinel node in breast cancer predict further involvement of higher-echolon nodes in the axilla. *Arch Surg* 2001; 136:688-692.
45. Sobin LH, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumors*. New York: Wiley-Liss; 2002.

46. Bilchik AJ, Saha S, Wiese D et al. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: A multicenter trial. *J Clin Oncol* 2001; 19:1128-1136.
47. Saha S, Monson KM, Bilchik A et al. Comparative analysis of nodal upstaging between colon and rectal cancers by sentinel lymph node mapping: a prospective trial. *Dis Colon Rectum* 2004; 47:1767-1772.
48. Bertagnolli M, Miedema B, Redston M et al. Sentinel node staging of resectable colon cancer: results of a multicenter study. *Ann Surg* 2004; 240:624-630.
49. Read T, Fleshman JW, Caushaj PF. Sentinel lymph node mapping for adenocarcinoma of the colon does not improve staging accuracy. *Dis Colon Rectum* 48[1], 80-85. 2005.
50. Bilchik AJ, Nora DT, Sobin LH et al. Effect of lymphatic mapping on the new tumor-node-metastasis classification for colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21:668-672.
51. Cochran AJ, Morton DL, Stern S et al. Sentinel lymph nodes show profound downregulation of antigen-presenting cells of the paracortex: Implications for tumor biology and treatment. *Mod Pathol* 2001; 14:604-608.
52. Movassagh M, Spatz A, Davoust J et al. Selective accumulation of mature DC-Lamp+ dendritic cells in tumor sites is associated with efficient T-cell-mediated antitumor response and control of metastatic dissemination in melanoma. *Cancer Res* 2004; 64:2192-2198.

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den

Dr. med. Andreas Bembenek