

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Patientenkollektiv**

Insgesamt wurden 108 Frauen untersucht, die von Januar 2002 bis Juli 2005 auf Grund von Beschwerden der Mamma die Mammaspreechstunde der chirurgischen Ambulanz der Robert-Rössle-Klinik der Charite, Campus Berlin Buch aufsuchten. Für die Studie lag ein Votum der Ethikkommission (Nr. AA 3/02/38) der Charité vor.

#### **Einschlußkriterien:**

1. präoperativ histologisch gesichertes ADH/ALH, DCIS/LCIS oder invasives Mammakarzinom
2. bildgebender Verdacht auf ein ADH/ALH, DCIS/LCIS oder invasives Mammakarzinom
3. Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion
4. Bei Verdacht auf ein invasives Karzinom Indikation zur operativen Therapie
5. Alter mindestens 18 Jahre

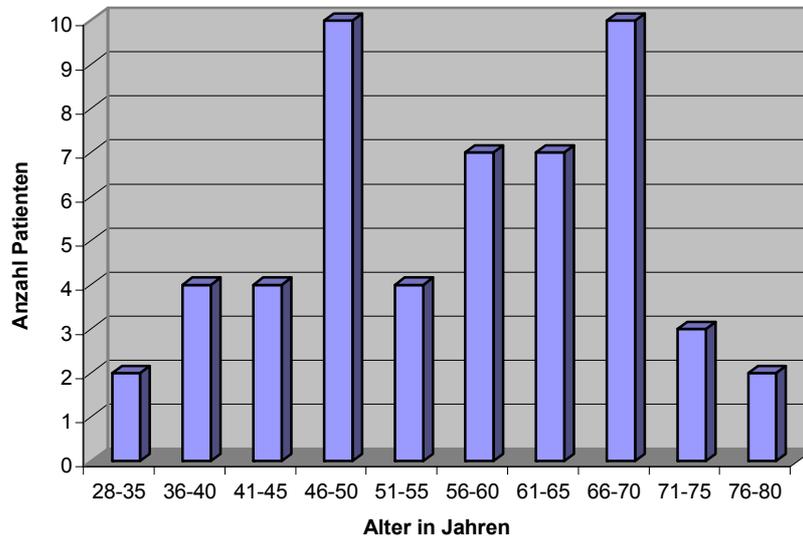
#### **Ausschlußkriterien:**

1. Fehlende Einwilligungsfähigkeit
2. ausgedehnte Voroperation oder Radiatio der betroffenen Brust (eine Stanzbiopsie oder diagnostische Exzision des Primärtumors gilt nicht als Voroperation)
3. Fehlbildungen der Mamille
4. Patientinnen mit neoadjuvanter Chemotherapie oder früherer Radiatio der untersuchten Brust
5. Sehr große Tumoren und Tumoren mit Infiltration der Mamille

Den Ein- und Ausschlusskriterien entsprechend waren von den 108 duktoskopierten Patientinnen 102 Studienteilnehmer für eine weiterführende Auswertung geeignet. Diese wurden in zwei Gruppen als Patientinnen mit Mammakarzinom (n=58) und Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion (n=44) getrennt ausgewertet. Sechs Patientinnen wurden auf Grund präoperativer neoadjuvanter Chemotherapie oder früherer Radiotherapie der untersuchten Brust nicht in die Auswertung einbezogen. Für alle Patientinnen lag eine unterschriebene Einwilligungserklärung vor.

### 3.1.1 Patientinnen mit Mammakarzinom

Epidemiologische Daten werden in Abbildung 3 und Tabelle 1 dargestellt.

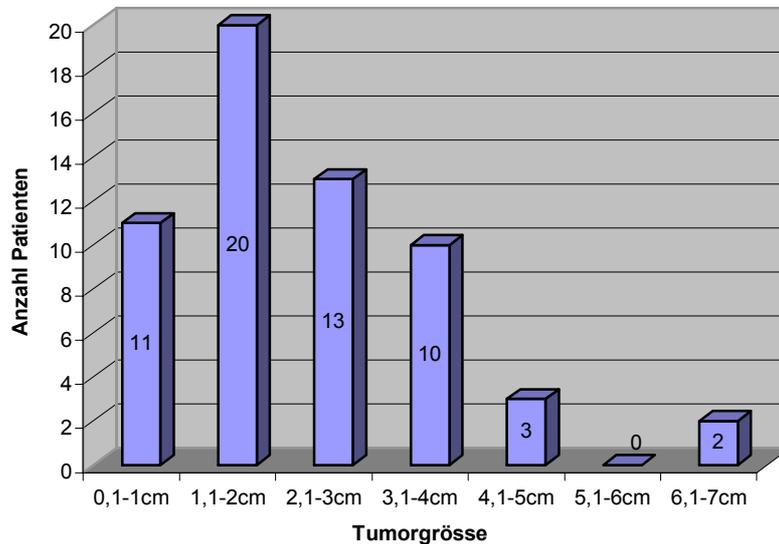


**Abb. 3:** Altersverteilung bei Patientinnen mit Mammakarzinom, n=53

**Tab. 1:** Anamnese bei Patientinnen mit Mammakarzinom, n=53; Median (Streubreite)

	Anzahl Patientinnen
<b>Alter in Jahren</b>	57 (21-82)
<b>Quadrant:</b>	
oben außen	28
oben innen	7
unten außen	6
unten innen	4
zentral	8
<b>Tumortiefe sagittal</b>	
retromamillär	12
zentral	25
präpectoral	16
<b>Positiver Tastbefund</b>	36
<b>Voroperation bei Brustkrebs</b>	
kontralateral	8
<b>Mastopathie 2°/3°</b>	19/7
<b>Pos. Familienanamnese</b>	12
<b>Hormonersatztherapie</b>	8

Die Befragung bzw. Krankenakte ergab bei keiner der Patientinnen einen Hinweis auf eine BRCA-Genmutation. Bei 24 Patientinnen war histopathologisch eine extensive intraduktale Komponente nachweisbar.



**Abb. 4:** Verteilung der Tumorgröße bei Patientinnen mit Mammakarzinom; bei sechs Patientinnen zeigte sich zusätzlich ein unabhängiges DCIS

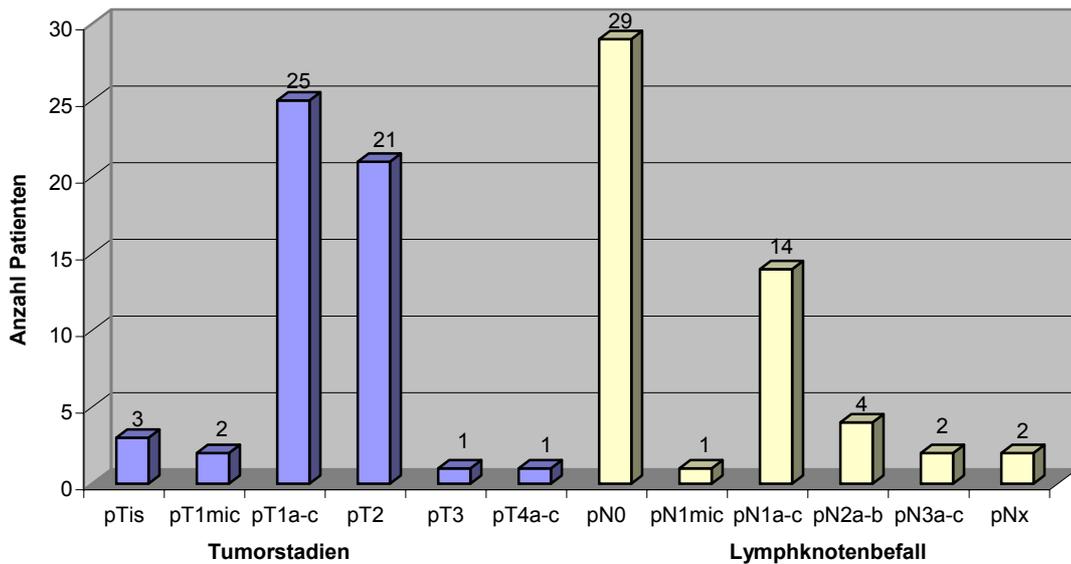
**Tab. 2:** Histopathologie der Operationsresektate bei Patientinnen mit Mammakarzinom, n=53

	Anzahl Patientinnen
<b>Präkanzerosen:</b>	
ADH/ALH	3/1
DCIS*	36
LCIS	5
Mischtyp dukt/lob	1
<b>Invasive Karzinome:</b>	
Duktal	31
Lobulär	9
Medullär	2
Papillär	1
Muzinös	1
Tubulär	4

\*sechs Patientinnen ohne invasive Komponente

Mehrfachnennung möglich

Die Einteilung maligner Mammatumoren wurde nach der aktuellen 6.Auflage des TNM-Systems zur Klassifikation maligner Mammatumoren von 2002 vorgenommen (Abb. 5). Das klinische präoperative Staging ergab bei keiner der Patientinnen einen Anhalt für Fernmetastasen.



**Abb. 5:** Histopathologisches Tumorstaging bei Patientinnen mit Mammakarzinom, n=53

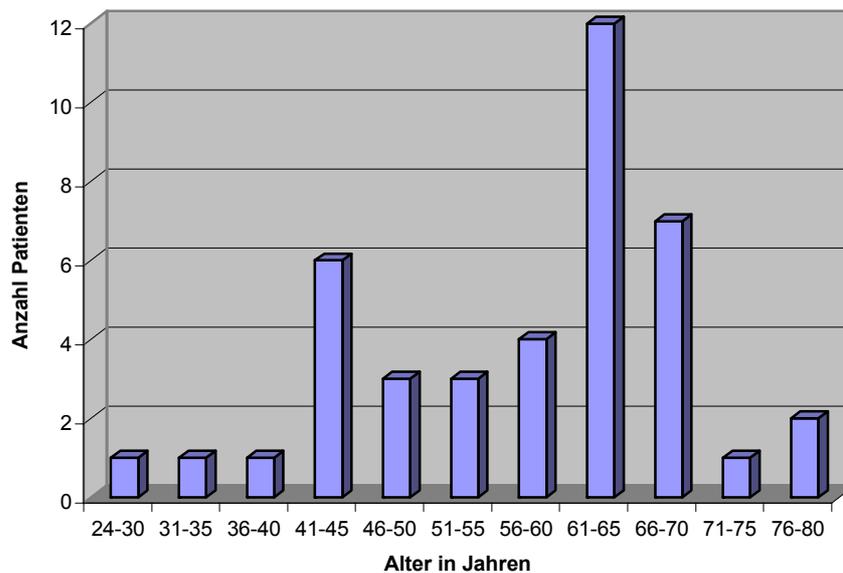
**Tab. 3:** Operationen bei Patientinnen mit Mammakarzinom, n=53

	Anzahl Patientinnen
<b>BET:</b>	
Diagnostische Exzision	3
Sektorresektion	21
Quadrantenresektion	12
<b>Mastektomie:</b>	
Primär	17
Sekundär*	13

\*Patientinnen mit vorheriger brusterhaltender OP

### 3.1.2 Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion

Die folgenden Daten wurden durch Befragung der Patientinnen sowie aus dem Studium der korrespondierenden Krankenunterlagen erhalten. Jeweils 41 Patientinnen dieser Gruppe wurden einer Mammographie bzw. Galaktographie unterzogen. Bei 34 Patientinnen wurde des Weiteren eine Sonographie, bei vier Patientinnen mit unklarem Herdbefund eine zusätzliche MR-Mammographie durchgeführt.



**Abb. 6:** Altersverteilung bei Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion, n=41

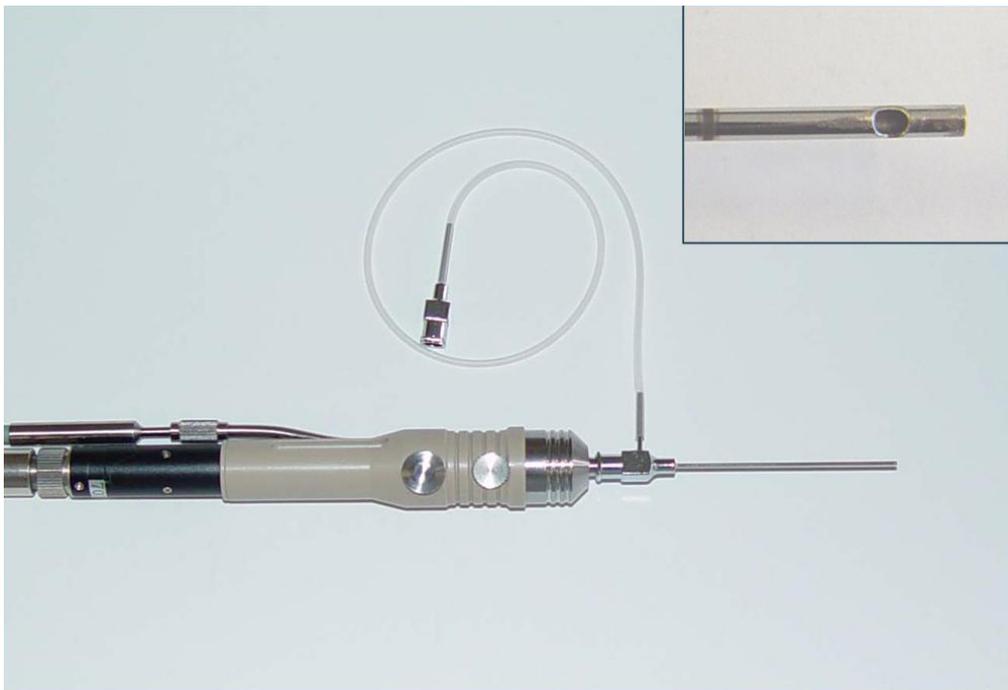
**Tab. 4:** Symptomatik bei Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion, n=41; Median (Streubreite)

	Anzahl Patientinnen
<b>Alter in Jahren</b>	61 (24-77)
<b>Sekretion:</b>	
Serös	12
Blutig	16
Trüb-milchig	4
Bräunlich	7
Grünlich	2
<b>Positiver Tastbefund</b>	7

## 3.2 Methodik

### 3.2.1 Duktoskopie

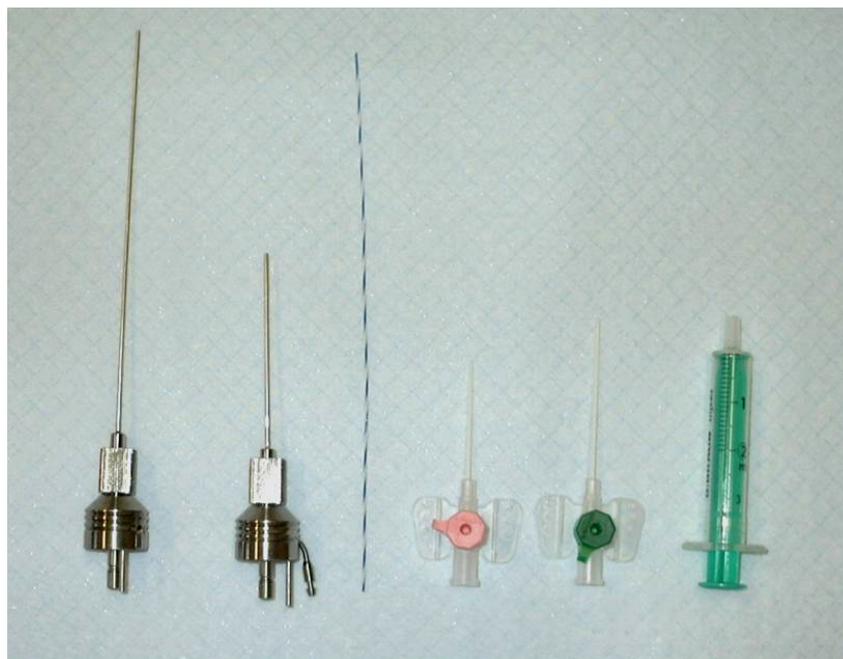
Alle Duktoskopien wurden unter der Voraussetzung einer geplanten operativen Therapie einer neoplastischen Läsion der Brust von einem spezialisierten Facharzt für Chirurgie durchgeführt. Die Untersuchungen fanden verblindet statt, d.h. der duktoskopierende Arzt hatte keine Informationen über Einzelheiten des radiologischen Befundes. Für alle Untersuchungen wurde ein starres Gradienten Index (GRIN) Mikroendoskop (Volpi AG, Schlieren, Schweiz) mit einem Durchmesser von 0,7mm mit Anschluss an eine hochauflösende 0,5 Zoll CCD PAL Farbkamera verwendet (Abb. 7). In Kombination mit einer 50 Watt Xenon Kaltlichtquelle (Intralux Vision, Volpi AG, Schlieren, Schweiz) wurde eine gute Gangausleuchtung mit hervorragender Bildqualität erzielt.



**Abb. 7:** Duktoskop mit Biopsienadel

Frauen mit der Verdachtsdiagnose Mammakarzinom wurden im Operationssaal in Allgemeinnarkose duktoskopiert. Bei Frauen mit pathologischer Mamillensekretion wurde die Untersuchung präoperativ unter Lokalanästhesie und Sedierung (Dormicum 3-5mg) durchgeführt. Nach Desinfektion der Brust und mamillärer Applikation von Lidocain-Gel (2%ig) wurde ein Milchgang mit einem 0,025 Zoll Führungsdraht (Zebra, Boston Scientific, USA) sondiert. Anschließend erfolgte mittels Seldingertechnik die

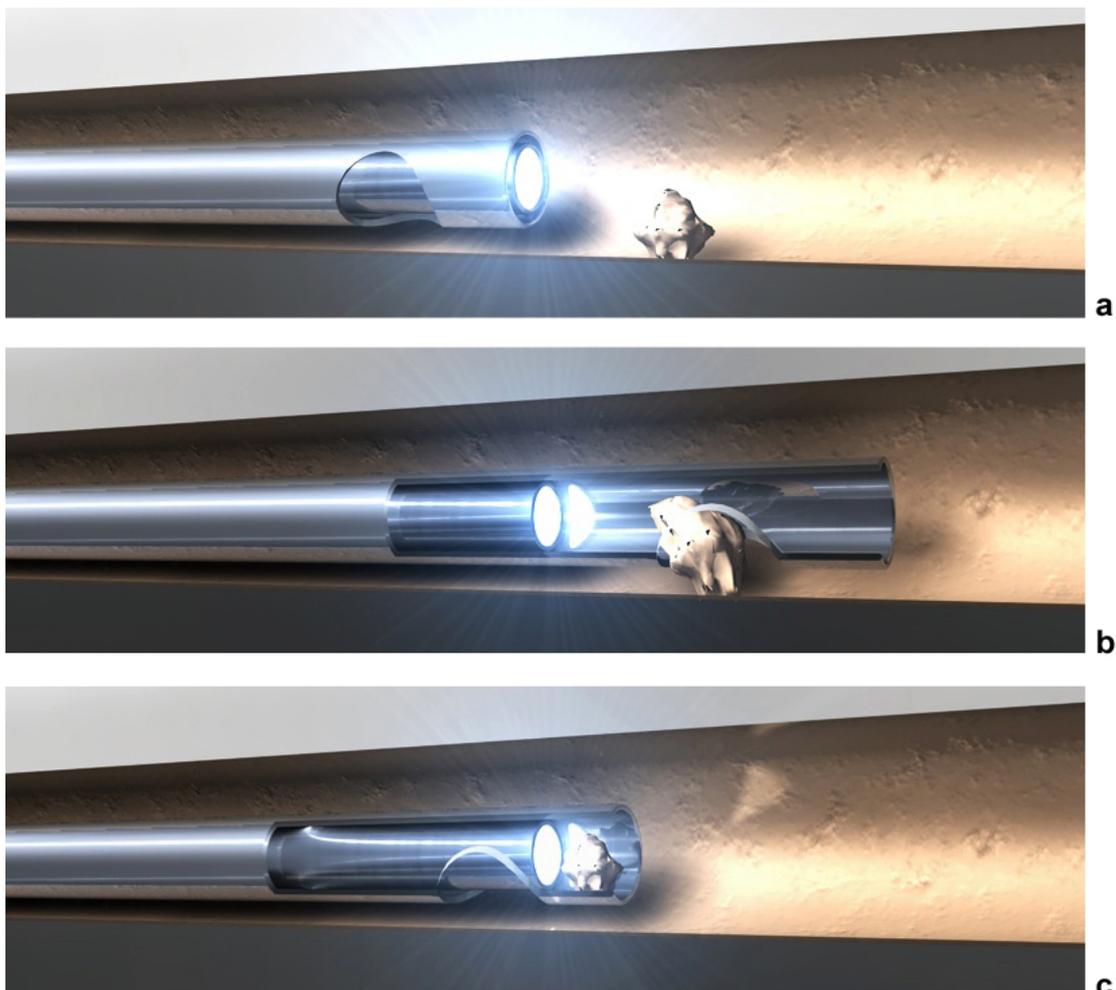
drahtgeführte fraktionierte Bougierung des Porus mittels 17, 18 und 20 Gauge Venenflexülen auf 1,1mm (Abb. 8). Anschließend wurde der Milchgang durch Einführung des Duktoskops über eine 0,9mm durchmessende Duktoskopienadel sondiert und durch Luftinsufflation aufgedehnt. Der Hauptgang und alle sondierbaren Seitengänge wurden systematisch untersucht. Die Milchgangs-anatomie sowie pathologische Veränderungen wurden videodokumentiert. Ein Sondierungsversuch wurde in die Auswertung einbezogen, wenn das Duktoskop um mehr als 1cm in das Gangsystem vorgeschoben werden konnte und eine eindeutige retromamilläre Gangmorphologie erkennbar war. Als normale Ganganatomie wurde eine im gesamten Sondierungsbereich als weißliche, porzellanartig glänzende und glatte intraduktale Gangoberfläche ohne Hinweis auf Entzündungszeichen oder neoplastische Proliferationen gewertet. Im Bereich von suspekten Veränderungen wurde über den Arbeitskanal des Endoskops eine Lavage durchgeführt. Das entnommene Sekret wurde für zytologische bzw. molekularbiologische Untersuchungen kryoasserviert. Um eine Korrelation von makroskopischen Veränderungen bzw. zytologischen und molekularbiologischen Befunden und der Histopathologie zu erzielen, erfolgte die Injektion eines Farbstoffs (Methylenblau) in den betroffenen Gangabschnitt. Anschließend erfolgten die standardisierte histopathologische Aufarbeitung der Brustdrüse sowie die gezielte Untersuchung des angefärbten Bereiches.



**Abb. 8:** Instrumentarium zur Kanulation mit Duktoskopsonden, Führungsdraht und Dilatatoren

### 3.2.2 Intraduktale Vakuumbiopsie

Für die intraduktale Gewebeentnahme wurde eine spezielle Duktoskopienadel entwickelt, über die das Duktoskop in den Milchgang vorgeschoben wird. Diese zeigt eine seitliche ovale, 3mm durchmessende Öffnung deren Rand als Klinge angeschliffen ist, um exophytisch in das Ganglumen vorwachsende Läsionen abschneiden zu können. Hierfür wird das Duktoskop 4mm zurückgezogen um die verschlossene Biopsiekammer zu öffnen. Unter visueller Kontrolle kann nun die Läsion in die Biopsiekammer manövriert werden. Das Zurückziehen der Biopsienadel erlaubt unter Vakuumapplikation über den Arbeitskanal die Gewinnung von Gewebeproben. Die Probengröße beträgt ca. 1mm und weist eine gute diagnostische Qualität auf (Hünerbein 2004, Abb. 9, Deutsches Patent Nr. 10258483 2004; US Patent Applikation Nr. WO 2004/052210 A1).



**Abb. 9:** Schema der intraduktalen Probenentnahme mit Biopsienadel: a) geschlossene Biopsiekammer, b) offene Biopsiekammer , c) geschlossene Biopsiekammer mit Gewebeprobe

### 3.2.3 Bildgebende Diagnostik

Die Untersuchungen wurden durch einen spezialisierten Facharzt für Radiologie durchgeführt. Sie fanden verblindet statt, d.h. der befundende Radiologe hatte keine Information über das Ergebnis der Duktoskopie. Um die Vergleichbarkeit der Untersuchungsbefunde zu gewährleisten und den Einfluss der Tumorprogression zu minimieren, wurden alle Patientenuntersuchungen einschließlich der Duktoskopie innerhalb von acht Wochen durchgeführt.

*Mammographie:* Alle Patientinnen wurden einer digitalen Mammographie mit 25-35 kV Aufnahmespannung unterzogen (Sinograph 2000 D; GE; Milwaukee, USA). Dies beinhaltete standardisierte craniocaudale und mediolaterale Schrägprojektionen der Mammae sowie ggf. Vergrößerungsaufnahmen bei suspektem Mikrokalk oder unklarem Herdbefund. Polymorpher, feinschollig gruppierter und duktilär oder segmental angeordneter Mikrokalk wurde hierbei als Hinweis auf ein intraduktales Tumorwachstum gewertet. Die radiologische Brustdrüsenparenchymdichte wurde nach der Klassifikation des American College of Radiology von radiologisch transparentem Parenchym (ACR 1&2) bis radiologisch dichtem Parenchym (ACR 3&4) eingestuft. Patientinnen mit brusterhaltender operativer Vortherapie der ipsilateralen Brust wurden auf Grund möglicherweise auftretender nekrose- und narbenassoziierter Mikroverkalkungen nicht mit in die Studie eingeschlossen.

*MR-Mammographie:* Bei selektierten Patientinnen wurde ein Vergleich mit der Duktoskopie für die Darstellung intraduktal wachsender Tumoren durchgeführt. Sie wurde bei suspekter Mammographie zur weiteren Befundabklärung mit 1,5 Tesla Magnetfeldstärke vorgenommen (Siemens Symphony, Erlangen, Deutschland). T1-gewichtete Aufnahmen [Spinecho, Repititionszeit 11ms, Echozeit 4,76ms, 256x256 Matrix, Aufnahmebereich 350mm, Schnittdicke 2mm, Distanzfaktor 20%] und T2-gewichtete Aufnahmen [Spinecho, Repititionszeit 9000ms, Echozeit 70ms, 256x256 Matrix, Aufnahmebereich 350mm, Schnittdicke 4mm, Distanzfaktor 50%] wurden von jeweils beiden Mammae angefertigt. Zur Darstellung kontrastmittelanreichernder Läsionen wurden Subtraktionsaufnahmen nach intravenöser Applikation von Gadolinium-DTPA (Magnevist, Schering, Berlin, Deutschland) mit 0,1mmol/kg Körpergewicht angefertigt. Die Befundinterpretation wurde in Anlehnung an die von Kuhl et al. (Kuhl 2000) publizierten MRM-Charakteristika der Radiomorphologie und Kontrastmittelkinetik

intramammärer Raumforderungen vorgenommen. Als Hinweis auf eine intraduktale Filialisierung wurde dabei abhängig von der Schnitfführungsebene eine punktförmige oder linear kontinuierliche Kontrastmittelanreicherung im Bereich des Primärtumors mit strang- oder dendritenförmiger Ausbreitung in Richtung Mamille mit oder ohne Präsentation eines Satellitentumors gewertet (Hata, 2004, Ikeda 2004, Nakahara 2002).

*Galaktographie:* In der Gruppe der Patientinnen mit pathologischer Mamillensekretion wurde bei jeder Patientin eine Galaktographie durchgeführt. Nach Desinfektion der Brust erfolgte nach Lokalisation des sezernierenden Milchgangsorefiziums die fraktionierte Dilatation und Sondierung mittels einer Spritzenkanüle der Größe 30 Gauge (interV, Medical Device Technologies Inc., Gainesville, USA) über die ca. 0,2-0,3 ml eines iodhaltigen Kontrastmittels (Ioversol) (Optiray, Tyco Healthcare Systems, Neustadt-Donau, Deutschland) in das Milchgangsystem injiziert wurden. Nach Fixierung der Kanüle wurde eine Mammographie durchgeführt. Dabei wurden unregelmäßig konturierte Füllungsdefekte und Gangunregelmäßigkeiten wie Gangobstruktionen mit mammographisch malignomverdächtigen Anomalien oder Gangverlagerung als hinweisend auf eine maligne Pathologie gewertet, während regelmäßig konturierte Füllungsdefekte und Gangerweiterungen als eine benigne Pathologie wie beispielsweise ein intraduktales Papillom gedeutet wurden (Sakorafas 2001).

#### 3.2.4 Operative Therapie

Für die operative Evaluation wurden entsprechend Indikation und optimaler Therapie standardchirurgische Verfahren nach histologischer Sicherung mittels präoperativer Stanzbiopsie angewandt. Dies beinhaltete je nach Histologie und Staging bei Verdacht auf einen malignen Mammatumor brusterhaltende Verfahren wie die diagnostische Tumorexzision, Sektorresektion oder Quadrantenresektion oder die Mastektomie mit oder ohne Brustaufbau. Letztere wurde primär, d.h. als erste Therapiemaßnahme, oder sekundär, d.h. nach einer brusterhaltenden Therapie, die nicht zu einer vollständigen Tumorexzision im Gesunden geführt hatten durchgeführt. Bei Verdacht auf einen benignen symptomatischen Tumor wurde eine diagnostische Exzision durchgeführt, bei Papillomen in Form einer Milchgangexzision.

### 3.2.5 Histologische Aufarbeitung

Die Operationsresektate wurden mittels histopathologischer Routinemethoden einschließlich Immunhistochemie untersucht. Eine extensive intraduktale Tumorkomponente wurde diagnostiziert, wenn der intraduktale Anteil des Karzinoms mehr als 25% der Primärtumormasse mit zusätzlich separierten intraduktalen Foci ausmachte (Schnitt 1984). Als kleine intraduktale Komponente wurden hingegen intraduktal wachsende Tumoranteile mit weniger als 10% der Tumormasse diagnostiziert.

### 3.2.6 Datenerfassung

Für die Datenanalyse wurden für die Duktoskopie Anästhesieform, Anzahl sondierter Milchgänge und sondierter Aufzweigungen, Sondierungstiefe, makroskopischer Befund, Histologie bei vorgenommener Biopsie, Probenanzahl und Zytologie erfasst. Soweit möglich, wurde bei Patientinnen mit Lokalanästhesie zusätzlich das Schmerzempfinden mittels visueller Schmerzanalogskala dokumentiert.

Für die Bildgebung durch Mammographie, MRM, und Galaktographie wurden untersuchungsabhängig die Verdachtsdiagnose, Beurteilung des Herdbefundes, Mikrokalk, Tumorgröße, Quadrant, Tumortiefe, Fokalität, BIRADS<sup>®</sup>- und ACR-Einstufung dokumentiert. Für die Galaktographie wurde zudem das Schmerzempfinden mittels visueller Schmerzanalogskala erfasst.

### 3.2.7 Statistik

Die statistische Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie von Prof. Dr. med. Klaus Wernecke unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS Version 11.0 für Windows erstellt. Für die zu überprüfenden Sachverhalte liegen nominal skalierte Daten vor. Die Ergebnisunterschiede wurden auf Signifikanz überprüft. Hierbei wurde für die Überprüfung der diagnostischen Bildgebung vs. Duktoskopie der McNemar-Test für verbundene Stichproben verwendet. Für die Korrelation mit der Histopathologie wurde der Exakte Test nach Fisher für zweiseitige Fragestellungen eingesetzt. Dabei wurden p-Werte kleiner als 0.05 als signifikant betrachtet.