

**Aus der Klinik für Chirurgie
der Universitätsklinik zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. T. Keck**

**Laparoskopische Lokalisation kolorektaler Tumore mithilfe
von Indocyaningrün-Fluoreszenzbildgebung**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Josefin Kolbe, geb. Zieske
aus Wriezen

Berlin 2020

1. Berichtstatterin/Berichtstatter: Prof. Dr. med. Tilman Laubert

2. Berichtstatterin/Berichtstatter: Prof. Dr. med. Andreas Böhle

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.2020

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 18.11.2020

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Resektion des kolorektalen Karzinoms	1
1.2 Präoperative endoskopische Tumorlokalisation	4
1.3 Arten der Tumormarkierung	6
1.3.1 Markierung von kolorektalen Tumoren mittels Tusche (India ink.)	7
1.3.2 Markierung kolorektaler Tumore mit Clips	8
1.3.3 Markierung kolorektaler Tumore mit Kohlenstoffverbindungen (SPOT)	9
1.4 Intraoperative Koloskopie	9
1.5 Indocyaningrün	11
1.6 Tumormarkierung mit Indocyaningrün und laparoskopische Tumordarstellung mithilfe von Fluoreszenzbildgebung	14
1.7 Fragestellung und Hypothese	16
2 Material und Methoden	18
2.1 Studiendesign	18
2.1.1 Patientenkollektiv	18
2.1.2 Begründung der Fallzahl	18
2.1.3 Einschlusskriterien	19
2.1.4 Ausschlusskriterien	20
2.2 Indocyaningrün (ICG-Pulsion®)	20
2.3 Endoskopische Tumormarkierung mit Indocyaningrün	21
2.4 Laparoskopisches Kamerasystem	22
2.5 Intraoperative laparoskopische Tumorlokalisation und Clipmarkierung mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung	23
2.6 Abstandsmessung vom Clip zum Tumor	25
2.7 Erfassungsbogen	26
2.8 Postoperative Tumorstadien	27
2.9 Statistische Auswertung der Daten	27
3 Ergebnisse	29
3.1 Demographische Daten	29
3.2 Präoperative Tumormarkierung	29
3.3 Tumorlokalisation	30
3.4 Endoskopische Tumormarkierung mit Indocyaningrün	30
3.5 Intraoperative Clipmarkierung	31

3.5.1 Laparoskopische Tumorlokalisierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (<i>Clipmarkierung 1</i>)	32
3.5.2 Laparoskopische Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (<i>Clipmarkierung 2</i>)	32
3.5.3 Beurteilung der Schwierigkeit der Tumorlokalisationen	33
3.5.4 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der <i>Clipmarkierung 1</i>	33
3.5.5 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der <i>Clipmarkierung 2</i>	33
3.5.6 Zusätzlicher Zeitaufwand	34
3.5.7 Vergleich der subjektiven Schwierigkeitsgrade	35
3.5.8 Intraoperative Koloskopie und studienspezifische Komplikationen	37
3.6 Vermessung des Resektates	39
3.7 T-Stadienverteilung und Tumorgröße	41
4 Diskussion	44
4.1 Studiendesign und Patientenkollektiv	45
4.2 Problematik der endoskopischen Tumorlokalisierung	46
4.3 Markierungsmittel Tusche (India ink.) vs. Indocyaningrün	48
4.3.1 Erfassungsbogen	54
4.4 Intraoperative Messdaten	55
4.4.1 Auswertung der Fragebögen zum subjektiven Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisierung	56
4.4.2 Lokalisationsgenauigkeit anhand der Vermessung des Resektates	57
4.4.3 Zusätzlicher Zeitaufwand	57
4.4.4 Intraoperative Koloskopie und studienspezifische Komplikationen	57
4.5 T-Stadienverteilung und Tumorgröße	58
4.5.1 Klinische Bedeutung und Nutzen der Studie	61
5 Zusammenfassung	65
6 Literaturverzeichnis	67
6.1 Internetquellen:	78
7 Anhang	79
7.1 Studienunterlagen	79
7.2 Publikationen:	86
8 Danksagungen	87
9 Lebenslauf	88

Hinweis: In dieser Inauguraldissertation wird, mit der Begründung zur vereinfachten Lesbarkeit und Erhaltung eines fortlaufenden Lesefflusses, auf die Aufteilung in die weibliche und männliche Wortform verzichtet. Es wird ausschließlich die maskuline Schreibform verwendet. Alle Ausführungen beziehen sich gleichermaßen auf den weiblichen Formenkreis.

Abkürzungsverzeichnis

Aa.	Arteriae, Arterien
Abb.	Abbildung
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
ca.	cirka
CCD	Charge-coupled device, Video Kamera von Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan
cm	Zentimeter
CME	complete mesocolic excision, komplette mesokolische Exzision
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
ebd.	ebenda
Fa.	Firma
FDA	Food and Drug Administration, Behörde für Lebens- und Arzneimittel
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.
HWZ	Halbwertszeit
i.d.R.	in der Regel
ICG	Indocyaningrün
IEN	Intraepitheliale Neoplasie
Intraop.	intraoperativ
IR	Infrarot
juxta	nahe bei
KRK	Kolorektales Karzinom
lap.	laparoskopisch
LED	Light-emitting diode, Leuchtdiode
MIC	minimalinvasive Chirurgie
ml	Milliliter
mm	Millimeter

Nll.	Nodi lymphatici, Lymphknoten
o.g.	oben genannt
OP	Operation, Operationssaal
RCT	Randomized controlled trial, randomisierte kontrollierte Studie
RKI	Robert Koch-Institut
s.o.	siehe oben
sog.	sogenannte, sogenannter, sogenanntes
Tab.	Tabelle
TME	Totale mesorektale Exzision
TNM	Tumorklassifikation nach international gebräuchlichen Kriterien
v.a.	vor allem
V.a.	Verdacht auf
vs.	versus
Vv.	Venae, Venen
WHO	World Health Organization, Weltgesundheitsorganisation
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Das kolorektale Karzinom (KRK) ist die weltweit am dritthäufigsten diagnostizierte Krebserkrankung [Bray et al., 2018; Pox, 2018; Keum et al., 2019; Rawla et al., 2019]. Die höchste Inzidenzrate für das KRK ist in Europa, Australien/ Neuseeland und Nordamerika zu beobachten, die niedrigste in Süd-/ Zentralasien und Afrika [Brenner et al., 2014; Bray et al., 2018]. Obwohl die Mortalität des KRK in den letzten Jahren erstmals zurückgegangen ist, stellt sie mit über 881000 Todesfällen im Jahr 2018 die zweithäufigste Sterbeursache der Krebserkrankungen weltweit dar [Bray et al., 2018]. Die Inzidenz des KRK steigt ab dem 50. Lebensjahr stark an [Sun et al., 2006; Je et al., 2009], mit einem mittleren Erkrankungsalter von 76 Jahren bei Frauen und 72 Jahren bei Männern [RKI und GEKID, 2019]. In Deutschland ist in den letzten Jahren erstmals eine leicht rückläufige Tendenz für die altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität zu beobachten [RKI und GEKID 2019]. Ausweislich der Statistik des Robert Koch-Instituts und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland erkrankten im Jahr 2016 etwa 25990 Frauen und 32300 Männer am kolorektalen Karzinom [ebd.]. Die Prognose für die Erkrankungszahlen im Jahr 2020 ist, der rückläufigen Tendenz folgend, etwas niedriger, aber dennoch bei etwa 24100 Frauen und 31300 Männern [ebd.]. Die Diagnose Darmkrebs ist somit die zweithäufigste Krebserkrankung bei Frauen und die dritthäufigste bei Männern [Pox, 2018; RKI und GEKID, 2019]. Der optimalen Therapie des kolorektalen Karzinoms kommt folglich eine große Bedeutung zu.

1.1 Resektion des kolorektalen Karzinoms

Die radikal chirurgische Resektion, mit Entfernung des tumortragenden Kolonsegmentes und systematischer Lymphadenektomie, stellt in der onkologischen Therapie des nicht metastasierten Kolonkarzinoms das zentrale Behandlungskonzept dar und ist meist die einzige kurative Therapieoption [Becker et al., 2002; Germer et al., 2014; Gröne, 2016].

In umfangreichen Studien konnte gezeigt werden, dass in der Kolonkarzinomchirurgie die Anzahl der entfernten Lymphknoten unabhängig vom Karzinom-Stadium mit der Prognose korreliert [Le Voyer et al., 2003; George et al., 2006 Chan et al., 2007]. Die lymphogene Metastasierung des Kolonkarzinoms folgt einem regelhaften Metastasierungsmuster mit zunächst longitudinaler Metastasierung zu beiden Seiten des Tumors in die parakolischen

Lymphknoten, anschließend in die intermediären Lymphnoten entlang der radiären Arterien und letztlich in die zentralen Lymphknoten am Stamm der den Darmabschnitt versorgenden Arterien [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019; Gröne, 2016; Pox, 2018]. Hierbei erfolgt eine parakolische Metastasierung nie über eine längere Distanz als 10 Zentimeter [Goligher, 1984; Toyota et al., 1995; Tan, 2010]. Daraus ergibt sich, dass das Resektionsausmaß einerseits vom Lymphabflussgebiet mit Durchtrennung der zentralen Arterien abhängig ist, andererseits ein Sicherheitsabstand zu beiden Seiten des Tumors von 10 Zentimetern eingehalten werden sollte [Gröne, 2016; Leitlinienprogramm Onkologie, 2019]. Eine Ausnahme bezüglich des Sicherheitsabstandes ergibt sich im Falle rechtsseitiger Kolonkarzinome, wobei Lymphknotenmetastasen am terminalen Ileum nur sehr selten vorkommen [Lan et al., 2011]. Bei einer Hemikolektomie rechts ist daher eine Resektion des terminalen Ileums von maximal 10 Zentimetern ausreichend [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019].

Tumore des linksseitigen Kolons wie beispielsweise Kolonkarzinome des Kolon descendens werden via Hemikolektomie links reseziert. Die Metastasierung erfolgt in diesem Bereich über die Arteria colica sinistra und die Arteriae sigmoideae nach zentral [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019]. In einer Hemikolektomie links wird daher die zentrale Durchtrennung der Arteria mesenterica inferior erforderlich. Die sich daraus ergebenden Resektionsgrenzen liegen distal im Bereich des oberen Rektumdrittels und proximal im Bereich der linken Flexur. Bei Tumoren des Kolon sigmoideum erfolgt die Metastasierung über die Arteriae sigmoideae zum Stamm der Arteria mesenterica inferior. Analog zur Hemikolektomie links ergeben sich die Resektionsgrenzen aus der zentralen Ligatur der Arteria mesenterica inferior, mit distaler Resektionsgrenze im oberen Rektumdrittel und proximal im Kolon descendens. Bei distalen Sigmakarzinomen sollte, analog zu Rektumkarzinomen des oberen Rektumdrittels, bei der distalen Darmdurchtrennung ein Sicherheitsabstand von mindestens 5 Zentimetern zum Tumorunterrand mit Durchtrennung des Mesorektums eingehalten werden [Kanemitsu et al., 2006; Chin et al., 2010].

Befindet sich der zu resezierende Tumor zwischen zwei Abflussgebieten, wie beispielsweise einem Karzinom der rechten oder linken Flexur, wird eine erweiterte Hemikolektomie rechts oder links notwendig. Bei einem Kolonkarzinom im Bereich des mittleren Kolon transversum, wird eine Transversumresektion mit Entfernung beider Kolonflexuren

erforderlich, da hierbei eine Metastasierung sowohl über die Arteria colica media als auch Arteria colica sinistra möglich wären.

Sobald aufgrund der Tumorlokalisation eine lymphogene Metastasierung über das große Netz in Richtung Magen oder Pankreas möglich ist, müssen die entsprechenden Lymphknotenstationen ebenfalls disseziert und eine Omentumresektion durchgeführt werden [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019].

Analog zum Mesorektum existiert embryologisch bedingt ebenfalls ein Mesokolon. Entsprechend der aktuellen S3-Leitlinie KRK sollte in der Kolonchirurgie eine komplette mesokolische Exzision (CME) erfolgen [Hohenberger et al., 2009; West et al., 2010; Leitlinienprogramm Onkologie, 2019]. Diese umfasst die Präparation entlang der embryonalen Schichten und schont somit die beiden mesokolischen Faszienblätter, die beidseitig die Lymphknoten an den versorgenden Arterien umhüllen. Durch das streng abgangsnahe Absetzen der jeweiligen Stammgefäße und der maximalen lokalen Radikalität kann eine maximale Lymphknotenausbeute erreicht und eine mögliche Tumorzell dissemination vermieden werden [Hohenberger et al., 2009; Gröne, 2016; Leitlinienprogramm Onkologie, 2019].

Die kurative Therapie des Rektumkarzinoms ist analog zur Kolonchirurgie abhängig von der Tumorlokalisation. Entscheidend für das jeweilige Operationsverfahren ist hierbei die Beziehung zur Linea dentata und dem Levatorschenkel, die Tiefeninfiltration und die Sphinkterfunktion. Analog zur CME in der Kolonchirurgie sollte neben der Entfernung des Primärtumors eine partielle (oberes Rektumdrittel) oder totale (mittleres und unteres Rektumdrittel) Entfernung des Mesorektums (TME) und des sich daraus ergebenden, regionären Lymphabflussgebietes erfolgen [Fielding et al., 1991; Pox, 2018]. Die Operationsverfahren können als tiefe anteriore Rektumresektion, abdomino-perineale Rektumexstirpation oder intersphinktäre Rektumresektion durchgeführt werden [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019]. Ein angemessener Sicherheitsabstand beträgt im oberen Rektumdrittel 5 Zentimeter [Heald et al., 1982; Zaheer; 1998]. Im mittleren und unteren Drittel werden für Low-Grade-Tumoren 1 bis 2 Zentimeter und für High-Grade-Tumore ein größerer Sicherheitsabstand empfohlen [Lazorthes et al., 1990; Andreola et al., 1997; Bokey et al., 1999; Onkologisches Leitlinienprogramm, 2019].

Unterschiede in der multimodalen Therapie von Kolon- und Rektumkarzinomen ergeben sich aufgrund der Tumorlokalisierung bereits präoperativ. Für Rektumkarzinome des unteren und mittleren Drittels der Stadien UICC II/III wird vor der geplanten Operation eine neoadjuvante Therapie empfohlen [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019; Appelt et al., 2015]. Diese Empfehlungen gelten für Kolon- und Rektumkarzinome des oberen Rektumdrittels nicht.

In der Viszeralchirurgie kam es in den letzten Jahren zu einem Wandel. Die konventionell offen chirurgische Therapie stellt nicht mehr das alleinige Therapieverfahren dar. In der jüngsten Zeit haben sich minimal invasive Verfahren als adäquate und anerkannte chirurgisch-onkologische Therapieverfahren behauptet [Germer, 2014; Green et al., 2013]. In unterschiedlichen Langzeitstudien zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der onkologischen Ergebnisse von offen chirurgisch oder laparoskopisch operierten Kolonresektionen [Liang et al., 2008; Fleshman et al., 2007; Kuhry et al., 2008].

Insbesondere für die Laparoskopie ist die Lokalisation des Tumors von besonderer Bedeutung. Die intraoperativen Möglichkeiten zur Lokalisation des tumortragenden Darmabschnittes mithilfe taktiler Fähigkeiten sind technisch bedingt in der laparoskopischen Chirurgie beschränkt. Eine veränderte Lokalisation des Tumors kann sich zeitlich und technisch sehr aufwändig gestalten. Wie im oberen Abschnitt dargestellt, ist das Resektionsausmaß maßgeblich von der Tumorlokalisierung abhängig.

1.2 Präoperative endoskopische Tumorlokalisierung

Obwohl derzeit bezüglich der Koloskopie als Screening-Verfahren ausschließlich Daten aus Fall-Kontroll- und Kohorten-Studien und keine aus randomisierten Studien existieren, gilt in der Früherkennung und Vorsorge kolorektaler Karzinome die Koloskopie als Goldstandard [Kaminski et al., 2010; Bode und Nitschmann, 2013; Onkologisches Leitlinienprogramm, 2014; Zhang et al., 2017]. Die Sensitivität, mit der kolorektale Karzinome mittels Koloskopie detektiert werden, liegt zwischen 85-95% [Piscatelli et al., 2005; Rex et al., 2015; Yap et al., 2016]. In einer großen Metaanalyse zur Effektivität unterschiedlicher Screening-Modalitäten konnte gezeigt werden, dass die Koloskopie die beste Screening-Methode in der Prävention kolorektaler Tumore darstellt [Zhang et al., 2017]. Dass Tumore mittels Koloskopie sicher und effektiv gefunden werden können, ist allgemeiner Konsens, die exakte Lokalisation ist jedoch mitunter schwierig. Der Darm hat

nur wenige eindeutige anatomische Landmarken, die es dem Endoskopiker ermöglichen eine exakte Lage innerhalb des Kolons zu bestimmen.

In unterschiedlichen Studien konnte nachgewiesen werden, dass es bei der endoskopisch beschriebenen Lage zu nicht unerheblichen Fehlern kommt [Cho et al., 2007; Vignati et al., 1994; Yap et al., 2016; Acuna et al., 2017]. In der Literatur werden fehlerhafte Tumorlokalisationen zwischen 11% und 21% [Vignati et al., 1994; Piscatelli et al., 2005; Cho et al., 2007; Yap et al. 2016] angegeben. Bereits 1994 verglichen Vignati et al. die endoskopisch bestimmte Höhenangabe mit der tatsächlichen intraoperativen Tumorlokalisation [Vignati et al., 1994]. In dieser Studie wurden 14% der Tumore via präoperativer Endoskopien fehlerhaft lokalisiert. Die laparoskopische Chirurgie sieht sich hierbei mit einer Problematik konfrontiert, die in der offen chirurgischen Therapie weniger dramatisch erscheint, da der Kolonrahmen abgetastet werden kann. In der genannten Studie führten von diesen fehlerhaft lokalisierten 14% lediglich 4,8% zu Problemen, die weitere Maßnahmen, wie bspw. eine intraoperative Koloskopie notwendig machten. Die Autoren führten an, dass die Notwendigkeit der exakten Lokalisierung in der offen chirurgischen Therapie vermindert sei, da die meisten Tumore palpabel sind. In der laparoskopischen Chirurgie fehlt jedoch die Möglichkeit der direkten Haptik, was v.a. bei kleinen Tumoren relevant ist, die außen am Darm nicht zu erkennen sind. Die Autoren empfahlen bei geplanten laparoskopischen Resektionen kleinere Läsionen vorher zu markieren [Vignati et al., 1994].

In der Laparoskopie kann es aufgrund einer fehlerhaften präoperativen endoskopischen Höhenangabe des Tumors, zu gravierenden intraoperativen Problemen kommen. So konnten bereits Fälle beschrieben werden, in denen die fehlerhafte endoskopische Lokalisierung zu einer veränderten chirurgischen Strategie führte [Piscatelli et al., 2005; Cho et al., 2007]. Eine plötzlich differierende Lokalisation kann dazu führen, dass der Operateur keine ausreichend hohen Erfahrungen für eine abweichende, laparoskopische Resektion hat, da beispielsweise eine laparoskopische erweiterte Hemikolektomie links technisch anspruchsvoller ist als die reine linksseitige Hemikolektomie. Dies wiederum kann eine verlängerte OP-Zeit oder einen Wechsel des OP-Teams bedeuten. Des Weiteren kann es zu einer nicht unwesentlichen Materialverschwendung (sterile Tücher, erneutes Abwaschen, etc.) kommen, wenn der Patient beispielsweise für eine intraoperative Koloskopie oder ein differierendes Operationsverfahren umgelagert werden muss.

Um eine Deplatziierung von Trokaren, eine verlängerte Operationszeit, einen erhöhten Blutverlust oder gar eine Entfernung des falschen Kolonsegments zu vermeiden, bedarf es ergänzender Maßnahmen, wie beispielsweise einer Markierung des Tumors [Larach et al., 1993; Vignati et al., 1994; Wexner et al., 1995; Piscatelli et al., 2005; Yeung et al., 2009; Yap et al., 2016; Acuna et al., 2017]. In einer 2007 veröffentlichten Studie wurde anhand eines Patientenkollektivs von 203 Patienten, die laparoskopisch operiert wurden, untersucht, wie sicher die präoperative Tumorlokalisation ist [Cho et al., 2007]. Diese Studie erbrachte eine ähnlich hohe Fehlerrate von 11%. Eine noch beachtlichere Fehlerrate von 21% zeigte sich in einer 2005 veröffentlichten Studie, in der die endoskopische Fehlerrate bei 236 Patienten, die sich einer Resektion eines kolorektalen Malignoms unterzogen, untersucht wurde [Piscatelli et al., 2005].

Eine fehlerhafte Höhenangabe kann hinsichtlich des onkologisch therapeutischen Vorgehens außerdem zu weiteren Problemen führen. Kolonkarzinome bzw. Rektumkarzinome des oberen Drittels und Rektumkarzinome des mittleren und unteren Drittels bedürfen einer unterschiedlichen Therapie. Relativ häufig wurden Läsionen im Rektosigmoid oder Kolon sigmoideum beschrieben und fanden sich letztlich jedoch im Rektum [Cho et al., 2007; Piscatelli et al., 2005]. Eine fehlerfreie Lokalisation ist besonders im Rektum notwendig. Rektumkarzinome des mittleren und unteren Drittels sollten im Stadium UICC II/III nicht nur neoadjuvant vorbehandelt werden, es sollte zudem eine totale und nicht nur partielle Entfernung des Mesorektums erfolgen (s. 1.1).

1.3 Arten der Tumormarkierung

Wie bereits erwähnt, ist die korrekte Lokalisation kolorektaler Karzinome besonders für die laparoskopische Chirurgie hilfreich, da hierbei die intraoperative Möglichkeit zur Palpation des Kolonrahmens eingeschränkt möglich ist und die taktile Empfindung deutlich erschwert wird [Arteaga-Gonzalez et al., 2006; Kawai et al., 2016]. 1995 beschrieben Wexner et al. Fälle, bei denen es aufgrund einer fehlerhaften koloskopischen Höhenangabe zur Entfernung des falschen Kolonsegmentes kam [Wexner et al., 1995]. 1958 wurden erstmalig Daten zur Markierung kolorektaler Tumore veröffentlicht [Sauntry und Knudtson, 1958].

1.3.1 Markierung von kolorektalen Tumoren mittels Tusche (India ink.)

In den letzten Jahren hat sich vor allem die Markierung der Tumore mit Tusche etabliert und stellt seit vielen Jahren den Standard dar [Rayees et al., 1996]. In einer Metaanalyse, in die 38 nicht-randomisierte, kontrollierte und Beobachtungsstudien inkludiert wurden, konnten Angaben bezüglich der jeweiligen Fehlerraten zur Lokalisierung kolorektaler Tumore mittels konventioneller Koloskopie im Vergleich zur Lokalisierung markierter Tumoren gemacht werden [Acuna et al., 2017]. Hierbei lag die Fehlerhäufigkeit der konventionellen Koloskopie, im Vergleich zur Detektion markierter Tumore, eindeutig höher (15,4% vs. 9,5%). In der genannten Studie wurden die Markierungen vornehmlich (n=11) mit Tusche durchgeführt. Die Informationen zu anderen Farbstoffen wie beispielsweise Indocyaningrün waren limitiert. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine alleinige konventionelle Koloskopie zur präoperativen Lokalisierung kolorektaler Läsionen inadäquat ist und eine Markierung kolorektaler Tumore insbesondere bei geplanter laparoskopischer Operation routinemäßig erfolgen sollte. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass es sich bei der Tuschemarkierung um ein sicheres, sinnvolles, exaktes und ökonomisches Verfahren handelt [Ponsky und King, 1975; McArthur et al., 1999; Fu et al., 2001; Feingold et al., 2004; Arteaga-Gonzalez et al., 2006; Cho et al., 2007; Pohl, 2013]. Diese Markierungsart ist jedoch nicht komplikationsfrei. In der Literatur werden unterschiedliche Langzeitfolgen und Komplikationen durch Tusche angegeben [Yeung et al., 2009]. Es können Dickdarmabszesse und eine lokalisierte Peritonitis auftreten [Coman et al., 1991], inflammatorische Pseudotumoren entstehen [Gianom et al., 2003], durch Tusche bedingte Adhäsionen bis hin zum Adhäsionileus auftreten [Yano et al., 2003] und intestinale Infarkte resultieren [Bahardursingh et al., 2003].

Ein weiteres Problem, zu dem es besonders bei einer versehentlich transmuralen, intraperitonealen Applikation von Tusche kommt, ist das Verfärben des OP-Situs [Fu et al., 2001; Cho et al., 2007; Nagata et al., 2016]. Dies kann eine erhebliche Erschwerung der Operation mit einer verlängerten Operationszeit bedeuten, da unter Umständen die Identifizierung wichtiger anatomischer Marken kaum noch möglich ist [Miyoshi et al., 2009]. Da die Farbpartikel von Tusche nur sehr langsam abgebaut werden, verbleiben die Partikel lange, wenn nicht sogar lebenslang, im Patienten [Price et al., 2000; Miyoshi et al., 2009].

1.3.2 Markierung kolorektaler Tumore mit Clips

Eine weitere Möglichkeit der Markierung kolorektaler Tumore ist die Clip-Applikation. Clips, in der Regel Metallclips mit einer Länge zwischen 8 bis 11mm und einem Durchmesser von 2 bis 3,2mm, wie beispielsweise Resolution clip (Boston Scientific, Natick, MA, USA) oder Quick clip 2 (Olympus Medical Systems Corp., Tokyo, Japan) werden mithilfe des Endoskops präoperativ appliziert [Ellis und Fennerty, 1997; Nguyen et al., 2011].

In der offenen Chirurgie ist besonders die Markierung kleinerer Läsionen hilfreich, da die Clips intraoperativ häufig gut palpabel sind. In der Laparoskopie besteht, wie bereits erläutert, jedoch die Problematik der eingeschränkten Haptik.

Acuna et al. (s. 1.2, 1.3.1) stellten in ihrer Meta-Analyse dar, dass die Fehlerrate der Lokalisation kolorektaler Tumore, die zuvor Clip markiert wurden, sehr variabel war. Sie reichte von sehr hoch mit 60%, wenn nur ein Clip zur Markierung genutzt wurde, bis sehr gering mit 0%, wenn zwei oder mehr Clips appliziert wurden [Acuna et al., 2017]. Von den 38 eingeschlossenen Studien, wurden in 3 Studien Clipmarkierungen zur laparoskopischen Detektion kolorektaler Tumore genutzt [Ohdaira et al., 1999; Keum et al., 2013; Warnick et al., 2013].

Eine Markierung kolorektaler Tumore mit Metall-Clips ist umständlich. Da die Clips, die auf der Mukosa appliziert wurden, laparoskopisch nicht gesehen werden können und schwierig zu tasten sind, bedarf es beispielsweise einer intraoperativen radiologischen Bildgebung, um die Clips darzustellen [Askin et al., 2002; Ohdaira et al., 1999]. Des Weiteren können Metall-Clips spontan dislozieren. In der Literatur werden Dislokationen innerhalb der ersten 2 bis 4 Stunden von 6% und 50% nach 1 Woche angegeben [Lehman et al., 1985; Ellis und Fennerty, 1997]. Wenn eine Clip-Applikation erfolgen soll, sollte sie daher zeitnah zur geplanten Operation durchgeführt werden [Leitlinienprogramm Onkologie, 2019]. Auch mit Metall-Detektorsystemen, die von Ohdaira et al. erprobt wurden, konnten bei Applikation eines einzelnen Clips nur 40% der Tumore detektiert werden [Ohdaira et al., 1999].

Weitere mögliche Komplikationen umfassen Perforationen und Blutungen [Lehman et al., 1985; Ellis und Fennerty, 1997].

1.3.3 Markierung kolorektaler Tumore mit Kohlenstoffverbindungen (SPOT)

Seit den 1970er Jahren sind Kohlenstoffverbindungen die am häufigsten verwendeten Partikel, die zur endoskopischen Markierung von Läsionen eingesetzt werden [Kethu et al., 2010]. Auch Tusche enthält neben weiteren Komponenten Kohlenstoffpartikel. Eine sterile und hoch aufgereinigte Lösung sehr feiner Kohlenstoffpartikel ist die von der FDA speziell für endoskopische Markierungen entwickelte Lösung SPOT (GI Supply, Camp Hill, Pa). Jede sterile Spritze dieses Markierungsmittels enthält 5ml und ist gebrauchsfertig einsetzbar [Kethu et al., 2010].

Askin et al. veröffentlichten 2002 eine Studie, in der sie 118 kolorektale Läsionen bei insgesamt 113 Patienten mit SPOT endoskopisch markierten [Askin et al., 2002]. Im Gegensatz zu Tusche enthält SPOT kein Schellack, Phenol, polycyclische Kohlenwasserstoffe, Ammoniak oder Gelatine [ebd.]. In allen 10, der in der Klinik der Autoren operierten Patienten, konnten die mit SPOT markierten Läsionen problemlos aufgefunden werden. In den histopathologischen Resektionsproben zeigten sich entzündliche Infiltrate und Fibrosen, klinische Beschwerden wurde jedoch von keinem der Patienten angegeben. Die Autoren kamen letztlich zu dem Schluss, dass es sich bei der Markierung mit aufgereinigter Kohle um einen geeigneten Farbstoff zur langfristigen Markierung handelt. Über Langzeitfolgen und späte Nebenwirkungen existieren bisher keine aussagekräftigen Daten.

1.4 Intraoperative Koloskopie

Ist die intraoperative Lokalisation von Kolontumoren nicht eindeutig oder der Tumor nicht auffindbar, kann eine intraoperative Koloskopie notwendig werden. Richter et al. veröffentlichten 1973 die ersten Untersuchungen zu intraoperativen Koloskopien während kolorektaler Eingriffe [Richter et al., 1973]. Die Autoren nutzten eine fiberoptische Koloskopie zur Detektion nicht palpabler kolorektaler Läsionen während Laparotomien. In unterschiedlichen Studien konnte gezeigt werden, dass die Insufflation der Darmschlingen mit CO₂ anstelle von Luft hierbei vorteilhafter ist [Nakajima et al., 2005; Souma et al., 2009]. Kohlenstoffdioxid kann leicht resorbiert werden und gelangt über den venösen Kreislauf des Kolons rasch in die Lungen [Kawai et al., 2016]. In einer Untersuchung von Souma et al.

fürte das Verwenden von CO₂ zu weniger distendierten Darmschlingen, woraufhin ein postoperativer Kostaufbau schneller durchgeführt werden konnte [Souma et al., 2009].

In einer Studie von Kim et al. wurden von 58 Patienten bei 13 Patienten eine intraoperative Koloskopie durchgeführt [Kim et al., 1997]. In 9 Fällen wurde die operative Exploration durch die luftgefüllten Darmschlingen gestört. Eine Lokalisierung der Tumore gelang in allen Fällen problemlos.

Sakanoue et al. kamen bereits 1993 zu der Überzeugung, dass es sich bei der intraoperativen Koloskopie um ein sicheres Verfahren handelt, wenn es von einem Experten durchgeführt wird [Sakanoue et al., 1993]. Von den durch die Autoren untersuchten 66 Patienten, bei denen eine intraoperative Koloskopie durchgeführt wurde, kam es jedoch bei 2 Patienten, zu postoperativen Komplikationen mit Ileus und Blutung. Es ist jedoch nicht zu eruieren, ob diese Komplikationen durch die intraoperative Koloskopie oder durch die Operation ausgelöst wurden.

Neuere Untersuchungen von Gorgun et al. weisen darauf hin, dass intraoperative Koloskopien während laparoskopischer Kolonresektionen die Inzidenz von Komplikationen nicht erhöhen [Gorgun et al., 2013]. Es wurden hierbei 30 Patienten untersucht, die sich während einer laparoskopischen intestinalen Resektion einer intraoperativen Koloskopie unterzogen und mit einer passenden Kontrollgruppe von n=30 verglichen. Es kam zu keinen, durch die intraoperative Koloskopie verursachten, Komplikationen oder Todesfällen. Die Operationszeit unterschied sich von 132 Minuten zu 151 Minuten (p=0,5). Limitierende Studienfaktoren waren die kleine Fallzahl und das nicht-randomisierte, retrospektive Studiendesign [Gorgun et al., 2013].

Letztlich ist die intraoperative Koloskopie ein seit 40 Jahren genutztes, diagnostisches Mittel zur Detektion kolorektaler Läsionen während kolorektaler Operationen [ebd.]. Eine intraoperative Koloskopie ermöglicht eine sichere Lokalisation, führt jedoch zu einer verlängerten Anästhesie- und Operationszeit, dehnt die Darmwand und bindet Personal durch das notwendige Endoskopie-Team [Poulard et al., 1985; Ellis und Fennerty, 1997; Askin et al., 2002; Gorgun et al., 2013; Kawai et al., 2016].

Daten zu anderen intraoperativen Verfahren zur Lokalisierung kolorektaler Läsionen, wie der intraoperativen Ultraschalluntersuchung mit Farb-Doppler [Panaro et al., 2003], Barium-Einläufen [Ellis und Fennerty, 1997] oder einem magnetischen Markierungsclip-

Detektorsystem [Ohdaira et al., 1999] existieren nur wenige und konnten sich bisher nicht behaupten.

1.5 Indocyaningrün

Auch wenn die durch Tusche auftretenden Komplikationen häufig auf einen Anwendungsfehler zurückzuführen und insgesamt eher selten sind [McArthur et al., 1999; Fu et al., 2001], stellt sich die Frage, ob es nicht alternative Farbstoffe gibt, die weniger unerwünschte Nebenwirkungen verursachen und mit gleicher Effektivität wie Tusche markieren können [Watanabe et al., 2009; Ozawa et al., 2016; Nagata et al., 2016]. Bisher konnten sich andere Farbstoffe wie Methylenblau, Indigokarmin, Lymphazurin, Tolouidinblau, Hämatoxylin oder Eosin nicht durchsetzen. Sie waren im Vergleich zu Tusche weniger effizient, in der Handhabung komplizierter und deren Markierungssicherheit nicht der von Tusche entsprechend [Kethu et al., 2010]. Im Gegensatz zu Tusche oder Indocyaningrün waren diese Farbstoffe innerhalb von 24 Stunden vollständig eliminiert, was ihre Nutzbarkeit deutlich einschränkt [Ellis und Fennerty, 1997].

In unterschiedlichen Studien am Tier konnte der Farbstoff Indocyaningrün (ICG) als zur herkömmlichen Tusche alternative Substanz zur Markierung erprobt werden [Hammond et al., 1989; Price et al., 2000; Lee et al., 2000; Miyoshi et al., 2009]. Hierbei konnte bereits nachgewiesen werden, dass es sich bei der ICG-Markierung um ein einfach handhabbares Verfahren, mit einer guten Gewebeverträglichkeit und nur minimalen histologischen Veränderungen bei submuköser Injektion handelt [Lee et al., 2000; Price et al., 2000].

Indocyaningrün (ICG) ist ein wasserlöslicher Farbstoff, der ausschließlich hepatisch eliminiert wird und bis zu 14 Tage sichtbar ist [Askin et al., 2002; Miyoshi et al., 2009; Hackethal et al., 2018; Rote Liste, 2020]. ICG wird bereits seit vielen Jahren in unterschiedlichen Bereichen der Medizin verwandt und wurde während des zweiten Weltkrieges entwickelt. Die Firma Kodak nutzte ICG zunächst für die Fotografie, erst 1957 wurde Indocyaningrün versuchsweise in der Mayo Clinic, Rochester, Minnesota für die Humanmedizin getestet [Fox et al., 1957]. 1959 fand Indocyaningrün nach FDA-Zulassung besonders in der Kardiologie zur Messung des Herz-Zeit-Volumens erste medizinische Anwendung. ICG unterliegt keiner signifikanten extrahepatischen oder enterohepatischen

Zirkulation, was diesen Farbstoff besonders für die Leberfunktionsdiagnostik interessant macht [Owens, 1996; Hackethal et al., 2018; Rote Liste, 2020].

ICG weist eine Molekülmasse von 774,96 Dalton auf [Gebrauchsinformation, 2015]. Das in dem ICG-PULSION®-Wassergemisch entstehende sterile Lyophilisat, wurde in Deutschland zur medizinischen Verwendung und insbesondere zu diagnostischen Zwecken im Sinne eines Kontrastmittels erstmals 2005 zugelassen [Gebrauchsinformation, 2015; Gelbe Liste, 2017; Rote Liste, 2019]. Indocyaningrün ist ein wasserlöslicher Farbstoff, der nicht in salzhaltigen Lösungen wie Ringer- oder Kochsalzlösung genutzt werden darf, da es sonst zu Ausfällungen kommt. Nach intravenöser Injektion bindet ICG sofort an die im Blut enthaltenen Plasmaproteine, wie bspw. Lipoproteine, Globuline und Albumin, wobei β -Apolipoprotein B mit 95% den Hauptträger bildet [Roenneberg, 2013; Rote Liste, 2019]. Durch den hohen Eiweißgehalt in Lymphflüssigkeit wird ICG vor allem im lymphatischen System angereichert [Gebrauchsinformation, 2015; Cherrick et al., 1960; Hackethal et al., 2018].

Indocyaningrün weist eine intravasale Plasma-HWZ von 3 bis 4 Minuten auf und wird biphasisch aus dem Plasma eliminiert [Cherrick, 1960; Ott, 1998; Hackethal, 2018; Rote Liste, 2020]. Die Elimination erfolgt ausschließlich über Leberparenchymzellen, die den Farbstoff unkonjugiert und unmetabolisiert in die Gallenflüssigkeit ausscheiden [Gelbe Liste, 2017].

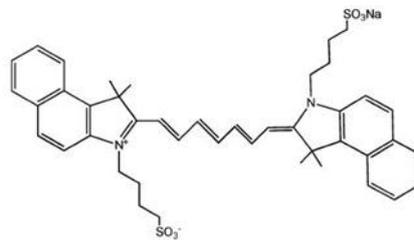
ICG wird nicht über den Magen-Darm-Trakt resorbiert, sodass ein enterohepatischer Kreislauf nicht möglich ist und eine Kumulation im Körper verhindert wird [Cherrick, 1960; Gelbe Liste, 2017]. Das Risiko für unerwünschte Arzneimittelwirkungen mit vornehmlich urtikariellen oder anaphylaktischen Reaktionen ist gering ($<1/10000$) [Lee et al., 2000; Price et al., 2000; Benya et al., 1989; Roenneberg, 2013; Gebrauchsinformation, 2015, Gelbe Liste, 2017]. Indocyaningrün enthält den Farbstoff Natriumjodid, der eine Rekristallisation des pulverförmigen Arzneimittels verhindert. Der enthaltene Jodidgehalt könnte potenziell mit Schilddrüsenerkrankungen in Wechselwirkung treten [Gebrauchsinformation, 2015]. ICG ist in wässrigen Lösungen nicht stabil, wobei die Degradation in Dunkelheit langsamer verläuft, weshalb ICG lichtgeschützt gelagert werden sollte [Gathje et al., 1970].

Neben der grünen Farbe hat Indocyaningrün einen weiteren, für die Medizin entscheidenden Vorteil. Es handelt sich um einen fluoreszierenden Farbstoff, dessen fluoreszierende

Eigenschaften bereits seit über 60 Jahren in der Medizin genutzt werden [Alander et al., 2012]. ICG weist sein fluoreszierendes Maximum bei 820nm auf und wird durch Licht mit der Wellenlänge von 760nm zum Leuchten angeregt [Tagaya et al., 2009; Olympus Winter&Ibe GmbH]. Sowohl das Absorptions- als auch das Emmissionsmaximum liegen somit nahe des Infrarotbereichs [Gröpner, 2012].

Der in diesem Arzneimittel enthaltene Wirkstoff ist Indocyaningrün und Mononatriumsalz. Indocyaningrün hat die Summenformel $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$ und die in Abbildung 1 dargestellte Strukturformel [Gebrauchsinformation, 2015].

Abbildung 1-1 Strukturformel von Indocyaningrün, aus [Gebrauchsinformation 2015]



Dieses Medikament findet bereits Einsatz in der Messung der Herz-, Kreislauf-, Mikrozirkulations- und der Leberfunktionsdiagnostik, der Ophthalmologie (insbesondere der Messung der Augenhintergrundperfusion) und in der Messung von Gewebepfusion [Gebrauchsinformation, 2015; Gelbe Liste, 2017, Boni et al., 2017]. In unterschiedlichen Studien konnte die Möglichkeit der intraoperativen Visualisierung von Tumoren durch ICG-Fluoreszenzbildgebung bereits nachgewiesen werden [Nguyen und Tsien, 2013; Polom et al., 2011]. Eine Darstellung hepatischer Tumore und zur Lokalisationsdiagnostik von Lymphknoten gastraler und rektaler Tumoren wurde mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung bereits beschrieben [Gotoh et al., 2009; Ishizawa et al., 2009; Tajima et al., 2009; Miyashiro et al., 2008]. Das in diesen Arbeiten mehrere Tage vor der Operation endoskopisch injizierte ICG konnte intraoperativ visualisiert werden. Es waren daraufhin Rückschlüsse über die Lymphabflusswege der Tumore anhand der fluoreszierenden Lymphknoten möglich [Tajima et al., 2009].

1.6 Tumormarkierung mit Indocyaningrün und laparoskopische Tumordarstellung mithilfe von Fluoreszenzbildgebung

Bisher existieren nur wenige Daten aus humanen Studien zur Untersuchung des Farbstoffs Indocyaningrün als Markierungsmittel kolorektaler Karzinome [Hammond et al., 1989; Miyoshi et al., 2009; Nagata et al., 2016; Ozawa et al., 2016]. Die in den genannten Studien erhobenen Daten weisen darauf hin, dass eine Markierung kolorektaler Tumore mit Indocyaningrün auch beim Menschen ein gleichwertiges Verfahren zur Tuschemarkierung sein könnte und es sich um ein sicheres und gut gewebeverträgliches Verfahren handelt [Acuna et al., 2017; Miyoshi et al., 2009; Price et al., 2000; Arteaga-Gonzalez, 2006].

Limitierende Faktoren für die Sichtbarkeit des grünen Farbstoffs ICG im Situs sind, genau wie bei der Tuschemarkierung, patientenspezifische Faktoren. So können voluminöses mesenteriales Fett, Adhäsionen, perikolisches Fett, oder das Omentum, die Sicht des Operateurs behindern und die farbliche Markierung dadurch nicht erkennbar sein [Miyoshi et al., 2009; Ozawa et al., 2016]. In den erwähnten Untersuchungen wurde die grüne Farbe des Farbstoffs zur Markierung genutzt, nicht die fluoreszierenden Eigenschaften. Es waren demnach keine weiteren Hilfsmittel oder Instrumentarien notwendig.

Eine farbliche Markierung ist nicht immer eindeutig sichtbar für den Operateur, sodass zusätzlich weitere Maßnahmen, wie eine intraoperative Koloskopie, notwendig werden können. Indocyaningrün hat neben seiner grünen Farbe jedoch den, wie oben genannten, Vorteil der Fluoreszenz (s. 1.5). Dies kann für die Markierung kolorektaler Karzinome, insbesondere für die Laparoskopie einen entscheidenden Vorteil bedeuten.

Im Rahmen einer Studie von offen-konventionellen Kolonresektionen bei Kolontumoren wurde die Tumorlokalisierung mit und ohne den Einsatz einer Fluoreszenzdarstellung untersucht [Watanabe et al., 2009]. Hierbei konnten mittels ICG-Fluoreszenzdarstellung die Tumore in 10 von 10 Fällen exakt lokalisiert werden. Ohne die Bildgebung gelang die Tumorlokalisierung in lediglich 2 von 10 Fällen. Die palpatorischen Möglichkeiten, wurden in diesem Kontext nicht berücksichtigt.

In einer 2016 veröffentlichten Studie wurde an einem sehr kleinen Patientenkollektiv (n=3) die intraoperative, laparoskopische Lokalisierung von Tusche- und ICG-markierter, kolorektaler Läsionen untersucht [Ozawa et al., 2016]. Den Autoren gelang es mittels eines

speziellen Kamerasystemen (PINPOINT®) die Tumore via Nahinfrarotlicht darzustellen. In allen 3 Fällen gelang eine problemlose Darstellung der Tumore mittels ICG-Fluoreszenz, in 2 Fällen konnte die Tuschemarkierung dagegen aufgrund anatomischer Besonderheiten (Adhäsionen, mesenteriales Fett) nicht identifiziert werden.

In einer weiteren Studie, die ebenfalls 2016 veröffentlicht wurde, kamen die Autoren zu einem ähnlich positiven Ergebnis für die ICG-Fluoreszenzdarstellung [Nagata et al., 2016]. Hierbei wurde anhand eines ähnlichen Studiendesigns bei n=24 Patienten getestet, ob sich durch Nahinfrarot, LED-aktiviertes ICG zur Lokalisierung kolorektaler Tumore in der Laparoskopie eignet. In dieser Studie wurden ebenfalls, wie in der Studie von Ozawa et al., präoperativ Tusche und Indocyaningrün simultan injiziert und innerhalb von 96 Stunden die Operation und Untersuchung durchgeführt. Intraoperativ wurden zunächst die Tuschemarkierungen unter Weißlicht und anschließend die ICG-Markierungen unter Nahinfrarot-LED sichtbar gemacht. In allen Fällen gelang eine Visualisierung und Detektion der ICG-Markierungen mit Nahinfrarot-LED aktivierter ICG-Fluoreszenz, in n=10 (41%) Fällen die von Tuschemarkierungen. Histopathologische Auswertungen ergaben als einzige durch Indocyaningrün ausgelöste Pathologien eine minimale submuköse Schwellung. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass mittels dieser „double-injection technique“ eine sichere und leichte Darstellung kolorektaler Tumore möglich sei. Als studienlimitierend wurde die kleine Fallzahl, das zusätzliche Equipment zur Visualisierung des ICG und der damit verbundenen erhöhten Kosten, sowie die präoperative zeitliche Koordinierung der Koloskopie und ICG-Markierung in Bezug auf die Operation eingeschätzt [Nagata et al., 2016].

In keiner der genannten Studien kam es zu Komplikationen durch die ICG-Markierung. Es konnte gezeigt werden, dass eine Lokalisierung mittels Indocyaningrün-Fluoreszenz auch dann gut möglich ist, wenn eine Tuschemarkierung aufgrund von beispielsweise dickem mesenterialem Fett oder Darmwandverdickung nicht sichtbar war [Ozawa et al., 2016]. Die in den genannten Studien gezeigte Überlegenheit von ICG führt zu der Frage der Machbarkeit und Sicherheit einer alleinigen Markierung kolorektaler Tumore mit Indocyaningrün und einer laparoskopischen Detektion mithilfe von ICG-Fluoreszenzbildgebung.

1.7 Fragestellung und Hypothese

Die präoperative endoskopische Tumormarkierung mit Tusche erfolgt in der offenen und laparoskopischen Kolonchirurgie bei einigen Lokalisationen bereits routinemäßig [Rayees et al., 1996]. Diese Markierung ermöglicht dem Operateur eine genaue Lokalisation selbst kleiner Tumore und vereinfacht die Festlegung der Resektionsgrenzen. Bei aussagekräftiger Markierung ist er auf die intraoperative Koloskopie nicht angewiesen [Arteaga-Gonzalez et al., 2006; Acuna et al., 2017]. Auf die Limitationen dieser Art der Markierung wurde eingegangen.

In einem ähnlichen, wie hier angegebenen Studiendesign (s. 1.6), konnten im Rahmen konventioneller Operationen signifikante statistische Ergebnisse erhoben werden [Watanabe et al., 2009]. Die Kollektivgröße wurde letztlich nach statistischer Kalkulation einer geeigneten Studiengröße auf 20 Patienten festgelegt und untersucht.

Die vorliegende Untersuchung soll anhand einer Machbarkeitsstudie folgenden Fragen nachgehen:

- Ist die präoperative endoskopische Markierung von Kolontumoren mit ICG als alleinigen Farbstoff möglich?
- Kann die Fluoreszenztechnik eine laparoskopische Lokalisierung kolorektaler Läsionen ermöglichen?
- Bestehen Unterschiede in der laparoskopischen Lokalisationsgenauigkeit kolorektaler Tumore mit und ohne ICG-Markierung?
- Schätzt der Operateur den Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisierung unterschiedlich für die jeweiligen *Clipmarkierungen 1* und *2* ein? Wenn sich Unterschiede ergeben, wird die Tumorlokalisierung mit Indocyaningrün-Fluoreszenzbildgebung subjektiv leichter, schwerer oder gleich der ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung eingeschätzt?
- Bestehen Unterschiede im subjektiv wahrgenommenen Schwierigkeitsgrad der Lokalisation und Lokalisationsgenauigkeit mit und ohne ICG-markierter kolorektaler Tumore hinsichtlich der Tumorgröße?
- Könnten mithilfe der Fluoreszenzbildgebung ICG-markierter kolorektaler Tumore intraoperative Endoskopien reduziert werden?

- Können anhand der erhobenen Daten Rückschlüsse gezogen werden, ob die ICG-Tumormarkierung im klinischen Alltag der laparoskopisch operativen Behandlung kolorektaler Tumore Anwendung finden könnte?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Für die vorliegende Arbeit wurde eine prospektive, kontrollierte, klinisch experimentelle Studie durchgeführt. Ein positives Ethikvotum der Universitätsklinik zu Lübeck zur Durchführung der Studie lag vor (Aktenzeichen 09-177). Es wurde die Machbarkeit eines diagnostischen Verfahrens geprüft. Es wurde untersucht, ob sich kolorektale Tumore mit dem Farbstoff Indocyaningrün markieren und intraoperativ mit einem Kamerasystem visualisieren lassen.

Anhand einer Patientengruppe wurde intra- und interindividuell verglichen, ob es zu Unterschieden in der Lokalisationsgenauigkeit mit und ohne Indocyaningrün gestützter Fluoreszenzbildgebung kommt.

Mithilfe eines ordinalskalierten Fragebogens wurden die Operateure zum subjektiv wahrgenommenen Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisierung für jedes Verfahren separat befragt. Des Weiteren wurde erfasst, wieviel Zeit die Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung in Anspruch nahm, ob es zu studienspezifischen Komplikationen kam und ob intraoperative Koloskopien zur intraoperativen Tumorlokalisierung notwendig wurden (s. 2.7).

2.1.1 Patientenkollektiv

Das untersuchte Kollektiv umfasste $n=20$ Patienten. Hierbei handelte es sich um Patienten, die sich aufgrund eines kolorektalen Tumors einer laparoskopischen Resektion in der Klinik für Chirurgie des UKSH Campus Lübeck unterzogen. Die Operationsindikation wurde studienunabhängig, fachärztlich und leitliniengerecht gestellt. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte über die viszeralchirurgische Sprechstunde.

2.1.2 Begründung der Fallzahl

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck, wurde die notwendige Fallzahl vor Durchführung der Studie berechnet. In einem

ähnlichen wie hier angegeben Studiendesign konnten Daten zur Markierung von kolorektalen Tumoren im Rahmen offen konventioneller Resektionen erhoben werden [Watanabe et al., 2009]. Dabei wurde mittels ICG-Fluoreszenzbildgebung die Tumorlokalisation in 10 von 10 der Fälle exakt ermittelt. Ohne die ICG-Fluoreszenzdarstellung gelang die Tumorlokalisation in 20% (n=2) der Fälle. Ausgehend von einer prozentual ähnlich richtigen Tumorlokalisation in der Laparoskopie ohne Einsatz der ICG-Bildgebung mit einer Tumorerkennung von 30% ohne vs. 80% mit Fluoreszenzdarstellung wurde auf normativer Basis und Verwendung des Mc Nemar's Test eine voraussichtliche Kollektivgröße von n=19 zum Erlangen einer signifikanten Differenz berechnet. Die Power wurde mit 80% angegeben und das Signifikanzniveau α mit 0,05 [Miettinen, 1986].

2.1.3 Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten mit einem kolorektalen Tumor, die einwilligungsfähig und mindestens 18 Jahre alt waren. Studienunabhängig und nach Diagnosesicherung, sowie Komplettierung der Staginguntersuchungen, wurde die Indikation zur laparoskopischen Operation gestellt. Der prä- und postoperative Verlauf, sowie die Operationstechnik und -methode änderten sich durch die vorliegende Studie nicht. Nach OP-Aufklärung durch den Operateur, schriftlicher Zustimmung durch die Patienten und geplanter stationärer Aufnahme zur Operation, erfolgte die Information über die hier beschriebene Studie durch die Studienleitung. Die Patienten wurden ausführlich über Risiken und Nebenwirkungen, sowie Fragestellung der Studie aufgeklärt und willigten nach entsprechender Bedenkzeit schriftlich in die Teilnahme ein. Es wurden ausschließlich Patienten untersucht, bei denen eine schriftliche Einverständniserklärung vorlag (informed consent).

Eine schriftliche Patienteninformation über das Wesen, die Bedeutung der Studie, sowie der möglichen pharmakologischen Nebenwirkungen des verwendeten Indocyaningrüns wurde ausgehändigt. Des Weiteren wurden die Studienteilnehmer über die Datenschutzrechte aufgeklärt (siehe Anhang). Die schriftliche Einwilligungserklärung wurde archiviert und ist ausschließlich dem Studienpersonal zugänglich, das Patientenexemplar erhielten die jeweiligen Studienteilnehmer.

Ein Rücktritt von der Teilnahme an der Studie war zu jedem Zeitpunkt und ohne Angaben von Gründen möglich, wurde jedoch in dieser vorgelegten Studie von keinem der rekrutierten Patienten wahrgenommen.

2.1.4 **Ausschlusskriterien**

Ausgeschlossen von der Teilnahme an der Studie wurden Patienten, die das 18. Lebensjahr noch nicht vollendet hatten. Patienten, die nicht selbständig einwilligungsfähig waren, oder bei denen eine gesetzliche Betreuung bzw. Vormundschaft vorlag, wurden ebenfalls von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Klinische Parameter wie eine Leberfunktionsstörung im fortgeschrittenen Stadium (Child B), eine Schilddrüsendysfunktion im Sinne einer Schilddrüsenüberfunktion oder –autonomie, bekannte allergische Reaktionen gegen Indocyaningrün, Jod oder Natriumjodid, sowie eine bestehende Schwangerschaft waren weitere Ausschlusskriterien. Patienten bei denen präoperativ bereits ein fortgeschrittenes Tumorstadium mit T4 diagnostiziert worden war oder bei denen der Tumor bereits stenosierend wuchs, wurden ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen.

2.2 **Indocyaningrün (ICG-Pulsion®)**

Das in dieser Untersuchung genutzte Medikament ICG-Pulsion® (Fa. Pulsion Medical Systems, München) ist ein in Deutschland zugelassenes Diagnostikum, das in gelöster Form in Gewebe injiziert werden darf (s. 1.5).

ICG-Pulsion® liegt primär als Pulver in einer Durchstechflasche vor. Das Pulver enthält den fluoreszierenden, wasserlöslichen Farbstoff Indocyaningrün (s. 1.5). Das Pharmakon ICG-Pulsion® ist in der aktuellen Roten Liste mit Nebenwirkungen, Kontraindikationen und Dosierung gelistet [Rote Liste, 2019]. In der Literatur sind nur seltene Nebenwirkungen beschrieben [Benya et al., 1989; Price et. al., 2000; Roenneberg, 2013; Gebrauchsinformation, 2015].

In der hier vorgestellten Untersuchung sind keine Komplikationen durch das applizierte Indocyaningrün aufgetreten.

2.3 Endoskopische Tumormarkierung mit Indocyaningrün

Die endoskopische Tumormarkierung erfolgte im Rahmen einer koloskopischen Untersuchung in der interdisziplinären Abteilung für Endoskopie des UKSH Lübeck. Die Untersuchenden kamen aus den Kliniken für Innere Medizin und Chirurgie und befanden sich in unterschiedlichen Ausbildungsstadien vom Assistenzarzt bis zum Oberarzt. Es wurden Koloskope der Modelle PCF-160 AL (Olympus®, Hamburg, Deutschland) verwandt. Eine schriftliche Einverständniserklärung war obligater Bestandteil der Untersuchung. Die endoskopische Markierung konnte laut Studienprotokoll (s. Anhang) bis maximal 7 Tage vor geplanter Operation erfolgen. Die koloskopische Untersuchung gehörte zur präoperativen Vorbereitung und wurde auch ohne Studienteilnahme durchgeführt.

Die orthograde Darmlavage erfolgte mit Klean-Prep® (Norgine®, Marburg, Deutschland) entsprechend der etablierten Vorbereitung für eine Koloskopie. Die endoskopischen Untersuchungen erfolgten, gemäß den Standards der Abteilung, in Sedierung mit Midazolam und Propofol. Während der Vorbereitungen für die Koloskopie wurde die zu applizierende ICG-Lösung durch die Studienleitung vorbereitet. Im Erfassungsbogen wurden Patientendaten, Datum und Uhrzeit der Markierung, sowie koloskopierender Arzt notiert.

Zur Markierung der Tumore wurde das Medikament ICG-Pulsion® (25mg) verwandt. Zur Herstellung der Lösung wurden 8 ml Aqua® (Braun®, Melsungen, Deutschland) in einer 10 ml Spritze (Braun®, Melsungen, Deutschland) aufgezogen. Indocyaningrün ist lichtempfindlich, sodass das Medikament in einem lichtundurchlässigen Gefäß aufbewahrt wurde. Nach Zufügen der 8ml Aqua® wurde die Flasche sanft geschwenkt, um ein vollständiges Lösen des Pulvers zu erreichen. Das Vermischen der Substanzen erfolgte langsam, um eine Schaumbildung zu verhindern. Anschließend wurden 2ml des gelösten Indocyaningrün in einer Spritze aufgezogen, wobei 1,5ml der Entlüftung des Injektionskatheters dienen. Der Endoskopiker suchte in gewohnter Technik das Kolon nach Tumoren ab und gab nach Auffinden die seiner Meinung nach zutreffende Tumorlokalisierung an, die im Erfassungsbogen notiert wurde. Alsdann wurden 0,25ml ICG-Lösung submukös am aboralen und 0,25ml submukös am oralen Tumorrand appliziert.

Eine beispielhafte Tumormarkierung ist in Abbildung 2-1 dargestellt. Nach routinemäßiger Überwachung im Aufwachbereich der interdisziplinären Endoskopie wurden die Patienten

entweder in die häusliche Umgebung oder auf die chirurgische Normalstation entlassen bzw. verlegt.

Abbildung 2-1 Endoskopische präoperative Tumormarkierung mit Indocyaningrün

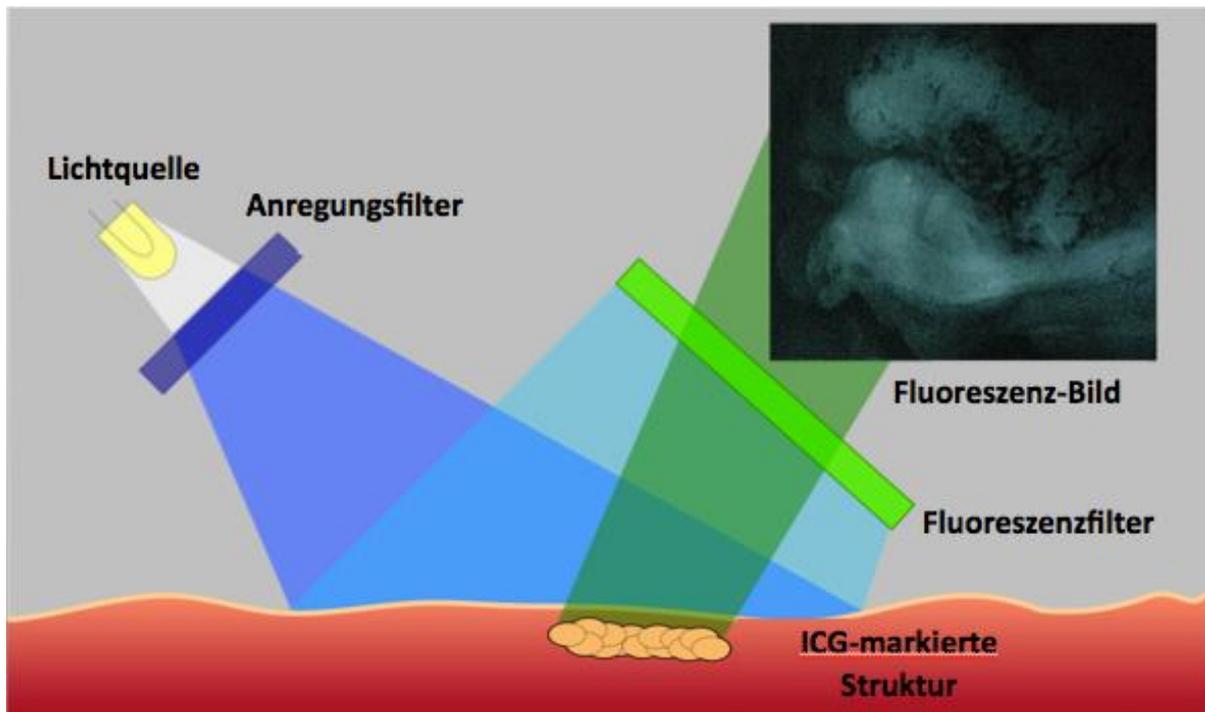


2.4 Laparoskopisches Kamerasystem

Zusätzlich zum normalen Laparoskopie-Bildgebungssystem wurde zur intraoperativen Bildgebung der ICG-Fluoreszenz ein laparoskopisches Kamerasystem genutzt, welches neben der regulären Bildfunktion in der Lage war, über die eingebrachte Lichtquelle Nahinfrarotlicht mit einer Wellenlänge von 760nm abzugeben. Zeitgleich konnte die Kamera ein gewohntes laparoskopisches Bild abgeben, indem sie gefiltertes Licht wieder aufnahm (s. Abbildung 2-2). Zur Beleuchtung wurde Licht einer Breitbandlichtquelle verwendet, das gefiltert wurde, um Wellenlängen des Fluoreszenzemissionsspektrums zu eliminieren. Ein zweiter Filter isolierte das Fluoreszenz-Emissionssignal, da sonst das viel intensivere Fluoreszenzlicht vom Anregungslicht überstrahlt werden worden wäre. Auf diese Weise war es möglich, ein Bild zu erzeugen, das nur die Information enthält, ob und wieviel Farbstoff in dem beobachteten Bereich vorhanden war (Olympus® Winter & Ibe GmbH, Hamburg, Deutschland). Dieser Filter, der letztlich nur das fluoreszierende Licht passieren ließ, konnte mithilfe einer leichten Drehbewegung an der Optik eingeschaltet werden. Ein intraoperativer Kamerawechsel zur Darstellung der ICG-Fluoreszenz ist nicht notwendig. Das Kamerasystem VISERA Pro (Olympus®, Hamburg, Deutschland) wurde speziell zur intraoperativen laparoskopischen Untersuchung entwickelt und trug die Bezeichnung VISERA Pro VIDEO SYSTEMS CENTER (OTV-Y0012), CAMERA HEAD (OTV-Y0013), VISERA Pro XENON LIGHT SOURCE (CLV-Y0007). Unter

eingeschaltetem Nahinfrarotlicht war die Visualisierung des OP-Situs auf dem Monitor erschwert. Hierauf wurden die Operateure hingewiesen. Das Kamerasystem war an eine eigene Bildwandlungskette (sog. Laparoskopie-Turm) gekoppelt. Die intraoperative Messung wurde mit einem Rekordersystem aufgezeichnet und die einzelnen Videokassetten mit den Patienteninitialien und der Studiennummer versehen.

Abbildung 2-2 Schematische Darstellung der ICG-Visualisierung nach Olympus Winter & Ibe GmbH



2.5 Intraoperative laparoskopische Tumorlokalisation und Clipmarkierung mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung

Die durchgeführten Resektionen wurden entsprechend der Standard Operation Procedures (SOP) laparoskopisch durchgeführt. Dem Operationspersonal wurde zu Beginn der Operation das benötigte Fluoreszenzsystem VISERA Pro (s. 2.4) steril angereicht. Ein zusätzlicher Laparoskopie-Turm wurde zur Aufzeichnung und Aufnahme der Fluoreszenzbildgebung bereitgestellt. Die Studienleitung war mit Operationsbeginn anwesend und blieb während der gesamten Operation zugegen.

Das operative Vorgehen erfolgte unter Berücksichtigung onkologisch-chirurgischer Kriterien. Im Rahmen der laparoskopischen Operation erfolgten zwei Versuche, den Tumor zu identifizieren bzw. zu lokalisieren.

Die Reihenfolge der Clipmarkierungen wurde zuvor im Studienprotokoll festgelegt. Es erfolgte grundsätzlich zuerst die laparoskopische Tumorlokalisierung ohne die additive ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*).

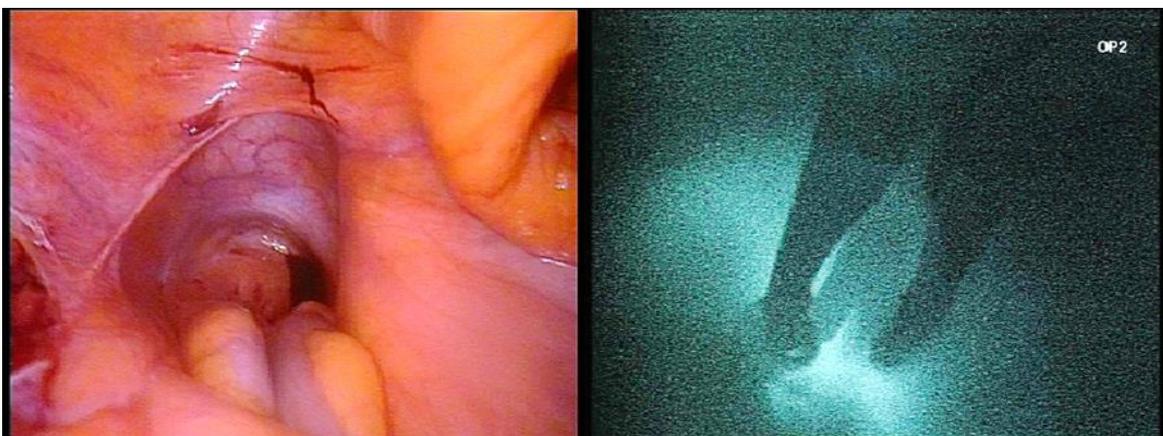
Die erste Untersuchung wurde intraoperativ konventionell durchgeführt: Die vermeintliche Lokalisation des Tumors wurde visuell und mithilfe der laparoskopischen Instrumente taktil bestimmt und nach eindeutiger Festlegung der Tumor durch einen Titanclip (silber), im Folgenden als *Clip 1* bezeichnet, am aboralen Tumorrand markiert und im Erfassungsbogen notiert. Der Operateur gab im Anschluss an die erste Clipmarkierung den subjektiven Schwierigkeitsgrad zur genauen Lokalisation des Tumors an:

- 1= nicht mögliche Tumorlokalisierung
- 2= schwierige Tumorlokalisierung
- 3= leichte Tumorlokalisierung.

Diese Einschätzung wurde umgehend durch die Studienleitung im Erfassungsbogen dokumentiert.

Im Anschluss erfolgte die zweite Untersuchung. Durch Drehen am Hals der Optik VISERA Pro® wurde auf den Nahinfrarotmodus umgeschaltet. In Abbildung 2-3a+b sind exemplarisch das intraoperativ laparoskopische Bild ohne Infrarot-Modus (2-3a) und mit Infrarotmodus (2-3b) dargestellt. Es folgte zunächst eine Übersichtsaufnahme unter Einsatz des Fluoreszenzsystems. Auf einer separaten Videokassette wurden die Fluoreszenzbildgebung und Tumorlokalisierung dokumentiert.

Abbildung 2-3 Intraoperatives laparoskopisches Bild a) ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung b) mit ICG-Fluoreszenzbildgebung



Der präoperativ applizierte Farbstoff Indocyaningrün wurde durch das Nahinfrarotlicht zur Fluoreszenz angeregt und sollte vom Operateur makroskopisch gesichtet werden. War eine Lokalisation des Tumors mithilfe der Fluoreszenz möglich, wurde ein Kunststoffclip (lila) am aboralen Tumorrand appliziert, im Folgenden als *Clip 2* bezeichnet. Der Operateur nahm erneut die o.g. subjektive Einschätzung der Tumorlokalisation vor, die ebenfalls dokumentiert wurde.

Im Erfassungsbogen wurde unterschieden zwischen „Laparoskopische Lokalisation und Clipmarkierung eindeutig möglich (Ja)“ oder „Laparoskopische Lokalisation und Clipmarkierung nicht eindeutig möglich (Nein)“.

Konnten die Resektionsgrenzen in konventioneller Technik nicht sicher festgelegt werden, erfolgte eine intraoperative Koloskopie. Diese Entscheidung war unabhängig von der ICG-Fluoreszenzbildgebung und oblag dem Operateur und Operationsteam. Die *Clipmarkierung 2* erfolgte jedoch vor etwaiger intraoperativer Koloskopie. Nach Festlegung der Resektionsgrenzen erfolgte die Resektion des betreffenden Kolonabschnitts bzw. des Rektums und die Operation wurde laparoskopisch bzw. laparoskopisch assistiert beendet.

2.6 Abstandsmessung vom Clip zum Tumor

Die Abstände vom jeweiligen Clip zum Tumor erfolgten am entnommenen Resektat mit Einmallinealen (Aspen Surgical®, Caledonia, USA) im Operationssaal. Das Resektat wurde hierzu mit einer Schere aufgeschnitten und der Abstand vom Clip zum intraluminal, makroskopisch erkennbaren, aboralen Tumorrand gemessen. Die Resektate wurden direkt im Anschluss an die operative Entnahme vermessen und der Abstand vom aboralen Tumorrand zum *Clip 1* (lila/Kunststoff) und *Clip 2* (silber/Titan) in Zentimetern angegeben.

Als „exakte“ Lokalisation wurden diejenigen Clipmarkierungen gewertet, die einen Abstand zum distalen, aboralen Tumorrand von $\leq 2\text{cm}$ aufwiesen.

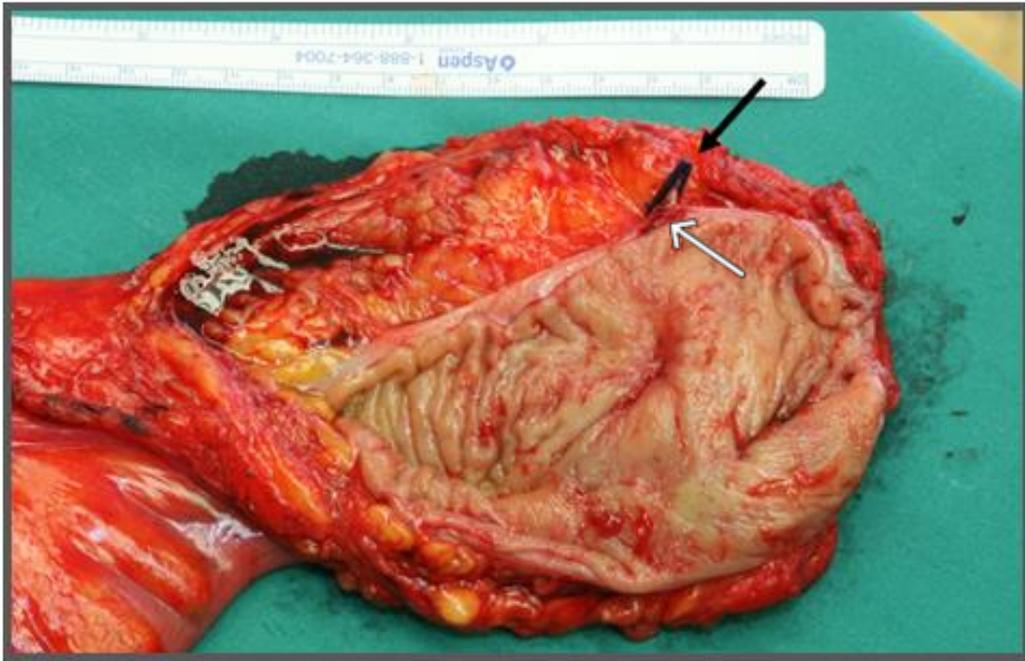
Konnte aufgrund einer unsicheren Lokalisation durch den Operateur kein Clip gesetzt werden, wurde dies als *fehlende Markierung (FM)* notiert.

Ein Abstand vom *Clip 1/2* zum aboralen Tumorrand $> 2\text{cm}$ wurde als „nicht exakt“ gewertet.

Ein Abstand von 0,0 bis 0,4cm der *Clipmarkierungen 1* und *2* wurde als „exakte Lokalisation am direkten Tumorrand“ gewertet.

Im Anschluss an die Vermessung wurde das Resektat der histopathologischen Beurteilung zugeführt. In der Abbildung 2-3 ist exemplarisch eine Vermessung für den gesetzten *Clip 2* (lila), bei nicht appliziertem *Clip 1*, dargestellt.

Abbildung 2-3 Resektat mit appliziertem *Clip 2* (schwarzer Pfeil) am aboralen Tumorrand (weißer Pfeil)



2.7 Erfassungsbogen

Die erhobenen Daten wurden fortlaufend in einem standardisierten Erfassungsbogen dokumentiert (s. Anhang). Dieser unterteilt die Daten in solche, die präoperativ, intraoperativ und postoperativ erhoben worden waren. Präoperativ wurden pseudonymisierte Patientendaten, Alter, BMI sowie Messdaten zur endoskopischen ICG-Markierung erfasst. Intraoperativ wurde, anhand eines ordinal skalierten Fragebogens, die empfundene Schwierigkeit der laparoskopischen Tumorlokalisierung und *Clipmarkierung 1* und *2* separat beurteilt (s. 2.5).

Die Vermessungen am Resektat wurden in Zentimetern angegeben (s. 2.6). Im letzten Abschnitt des Erfassungsbogens wurden notwendige intraoperative Koloskopien oder Komplikationen mittels „ja“ und „nein“ dokumentiert.

Postoperativ erfolgte die Erfassung des T- und N-Stadiums entsprechend des pathologischen Befundes. Eine Kopie des Erfassungsbogens, wie er nach der ersten Messung genutzt wurde, findet sich im Anhang.

2.8 Postoperative Tumorstadien

Die postoperative Festlegung des Tumorstadiums erfolgte durch das Institut für Pathologie am UKSH, Campus Lübeck. Die Tumorklassifikation basierte auf der WHO/UICC-Einteilung, 7. Auflage 2010 [Wittekind und Meyer, 2014].

2.9 Statistische Auswertung der Daten

Die Erfassungsbögen lagen in Papierform vor und wurden in Microsoft® Office Excel® 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) übernommen. Die Eingaben wurden mehrfach kontrolliert. Die epidemiologischen Daten des Erfassungsbogens wurden einer deskriptiven statistischen Auswertung unterzogen.

Die statistischen Auswertungen erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universitätsklinik zu Lübeck, sowie durch Frau Claudia Killaitis (Dokumentation und Statistik, Klinik für Chirurgie UKSH Campus Lübeck).

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Microsoft® Office Excel® 2007 und 2010 (Microsoft Corporation, Redmont, USA), sowie IBM® SPSS® Statistics 21 (International Business Machines Corporation, Armonk, USA).

Signifikante Unterschiede in der Entfernungsdifferenz zwischen Tumor und *Clipmarkierung 1* und *2* wurden anhand eines Vierfelder-Tests mit einem Abstand größer/ kleiner 2cm ausgewertet.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden alle angegebenen Werte auf maximal zwei Nachkommastellen gerundet. Ausgenommen hiervon sind p-Werte. Ein p-Wert von kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet. Alle angegebenen Werte verstehen sich als Mittelwerte (\pm Standardabweichung) bzw. Median mit Angabe der Range. Häufigkeiten wurden in Prozent angegeben.

Eine Auswertung der subjektiven Schwierigkeitsgrade bezüglich der Tumorlokalisierung der Clipmarkierungen erfolgte anhand des Wilcoxon-Tests für Paardifferenzen. Die Effektstärke wurde nach Cohen (Tab. 2-1) [Cohen, 1992] beurteilt.

Tabelle 2-1 Einteilung der Effektstärke nach Cohen [Cohen,1992]

Einteilung von Cohen (1992)
$r=0,10$ entspricht einem schwachen Effekt
$r=0,25$ entspricht einem mittleren Effekt
$r=0,40$ entspricht einem starken Effekt

Die im Vorfeld erfolgte Fallzahlberechnung wurde anhand des Mc Nemar's Test für verbundene Stichproben und der Software nQueryAdvisor 6.01 durchgeführt, sowie IBM® SPSS® Statistics 21 (International Business Machines Corporation, Armonk, USA).

In der ursprünglichen Studienplanung wurde nicht davon ausgegangen, dass eine intraoperative Messdatenerhebung nicht durchführbar sei. Die Analyse der Daten zur subjektiven Schwierigkeit der Tumorlokalisierung erfolgte daher nicht anhand des exakten Binomialtests (anstelle des McNemar-Tests wegen kleiner Fallzahlen), sondern anhand des exakten Multinomialtests auf Symmetrie der Tabelle eines zweimal beobachteten nominalen Merkmals (anstelle des McNemar-Bowker-Tests wegen kleiner Fallzahlen).

3 Ergebnisse

In die Studie wurden insgesamt n=20 Patienten eingeschlossen. Präoperativ wurden die Tumore aller rekrutierten Patienten mit dem Farbstoff Indocyaningrün koloskopisch markiert. Die präoperativ erhobenen Datensätze beziehen sich auf das Kollektiv von n=20 Patienten.

Es wurden intraoperative Messdaten zur Tumorlokalisierung erhoben, als Standard galt hier die laparoskopische Lokalisation ohne Fluoreszenzbildgebung, im Folgenden als *Clipmarkierung 1 (Clip 1)* bezeichnet. Als additives Verfahren wurde eine laparoskopische Lokalisation mit ICG-Fluoreszenzbildgebung durchgeführt, im Folgenden als *Clipmarkierung 2 (Clip 2)* bezeichnet. Eine intraoperative Datenerfassung zur laparoskopischen Clipmarkierung mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung erfolgte bei n=19 Patienten, im Folgenden als Gesamtkollektiv bezeichnet. Eine laparoskopische Kolonresektion erfolgte bei n=18 Patienten. Aufgrund starker Adhäsionen musste bei einem Patienten (n=1) vor den möglichen *Clipmarkierungen 1* und *2* konvertiert und offen chirurgisch operiert werden. Es konnten in diesem Fall keine intra- und postoperativen Daten erhoben werden. Bei einem weiteren Patienten (n=1) musste ebenfalls zur offenen Resektion konvertiert werden, die *Clipmarkierungen 1* und *2* konnten jedoch vor Konversion erfolgen. In diesem Fall konnten intra- und postoperative Daten erhoben werden. Die intraoperativ erhobenen *gültigen* Prozentzahlen beziehen sich auf das Gesamtkollektiv von n=19 Patienten. Der früh konvertierte Patient wurde als *fehlend (FM)* erfasst.

3.1 Demographische Daten

Ausgehend von n=20 Patientendatensätzen, die präoperativ erhoben worden waren, war das durchschnittliche Alter 67,5 ($\pm 11,8$) Jahre. Der jüngste Studienteilnehmer war 43 Jahre und der älteste 88 Jahre alt. Der durchschnittliche BMI betrug 28,4 kg/m² ($\pm 4,8$ kg/m²), mit einer Spannweite von 20 bis 40 kg/m². Das Kollektiv setzte sich aus 12 männlichen (60%) und 8 weiblichen (40%) Patienten zusammen.

3.2 Präoperative Tumormarkierung

Präoperativ wurden bei allen Patienten die Tumorlokalisierungen koloskopisch erfasst. Zudem wurde bei allen Patienten eine endoskopische Markierung der Tumore mit dem

Farbstoff Indocyaningrün submukös durchgeführt. Die koloskopische Markierung gelang bei n=20 (100%) Patienten ohne technische Probleme oder Komplikationen.

3.3 Tumorlokalisation

Zur Beschreibung der Tumor-Lokalisation wurde das Kolon in fünf Abschnitte eingeteilt: rechtes Kolon, Kolon transversum, linkes Kolon, Kolon sigmoideum und Rektum. Die endoskopische Lokalisation differierte in n=2 Fällen von der tatsächlichen Tumorlokalisation. Ein Tumor wurde rechts im Kolon lokalisiert und fand sich stattdessen im Kolon transversum (Studiennummer 10). Ein weiterer Tumor wurde koloskopisch im Kolon transversum lokalisiert, fand sich letztlich im rechten Kolon (Studiennummer 14).

Die Gesamtverteilung der hier dargestellten Tumorlokalisationen veränderte sich durch diese Abweichungen nicht und ist in der Tabelle 3-1 wiedergegeben.

Mit je n=6 (30%) der Fälle wurden die Tumore im rechten Kolon und Rektum lokalisiert. Die wenigsten Tumore fanden sich im linken Kolon (n=1; 5%). Bei dem früh konvertierten Fall (s. Abschnitt 3) befand sich der Tumor im Rektum.

Tabelle 3-1 Tumorlokalisation entsprechend der koloskopischen Angabe

Tumorlokalisation	Häufigkeit	Anteil in Prozent
Rechtes Kolon	6	30,0
Kolon transversum	3	15,0
Linkes Kolon	1	5,0
Kolon sigmoideum	4	20,0
Rektum	6	30,0

3.4 Endoskopische Tumormarkierung mit Indocyaningrün

Die endoskopische Markierung der Tumore erfolgte durch unterschiedliche Untersucher der Kliniken für Innere Medizin und Chirurgie.

Die endoskopische Markierung der Tumore des Kolons und Rektums mit dem Farbstoff Indocyaningrün gelang in allen 20 Fällen.

Es wurden in n=17 der Fälle (89,5%) 2x 0,25ml ICG appliziert. Aufgrund der bis zur Studiennummer 18 vorliegenden, positiven Ergebnisse bezüglich der intraoperativen Tumorlokalisierung mit Indocyaningrün gestützter Fluoreszenzbildgebung, wurde die Menge des Farbstoffs ICG in den letzten beiden Untersuchungen (Studiennummer 19 und 20) probatorisch auf die Hälfte reduziert. In n=2 Fällen (10,5%) wurden somit 2x 0,1ml ICG appliziert.

Die präoperative endoskopische ICG-Markierung der Tumore erfolgte zwischen 0 und maximal 4 Tagen präoperativ, im Median 1 Tag (0-4 Tage) präoperativ.

3.5 Intraoperative Clipmarkierung

Wie bereits oben beschrieben, konnten bei n=19 Patienten intraoperative Daten zur *Clipmarkierung 1* und *Clipmarkierung 2* erhoben werden (siehe 2.5).

Die Clipmarkierungen wurden von insgesamt sieben unterschiedlichen Operateuren durchgeführt.

3.5.1 Laparoskopische Tumorlokalisierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (Clipmarkierung 1)

Eine vom Operateur als eindeutig empfundene laparoskopische Tumorlokalisierung und Clipmarkierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) gelang bei n=10 Tumoren (52,6%; Tab. 3-2). In n=9 Fällen (47,4%) war keine vom Operateur als eindeutige empfundene Lokalisierung und *Clipmarkierung 1* möglich.

Tabelle 3-2 Subjektive laparoskopische Tumorlokalisierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*)

	Clipmarkierung subjektiv eindeutig möglich	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozent	Kumulierte Prozent
Gültig	Nein	9	45,0	47,4	47,4
	Ja	10	50,0	52,6	100,0
	Gesamt	19	95,0	100,0	
Fehlend	System	1	5,0		
Gesamt		20	100,0		

3.5.2 Laparoskopische Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (Clipmarkierung 2)

Die zweite Clipmarkierung erfolgte mithilfe der Indocyaningrün-gestützten Fluoreszenzbildgebung und wurde in allen Fällen (n=19; 100%) als eindeutig lokalisierbar eingeschätzt. Eine Übersicht über die laparoskopische Lokalisierung mit dem Einsatz der ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) gibt die Tabelle 3-3.

Tabelle 3-3 Subjektive laparoskopische Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*)

	Clipmarkierung subjektiv eindeutig möglich	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozent	Kumulierte Prozent
Gültig	Ja	19	95,0	100,0	100,0
	Nein	0	0,0	0,0	100,0
Fehlend	System	1	5,0		
Gesamt		20	100,0		

3.5.3 Beurteilung der Schwierigkeit der Tumorlokalisationen

Konnte eine als eindeutig empfundene Tumorlokalisation und Clipmarkierung erfolgen, wurde im Anschluss die Tumorlokalisation bezüglich der subjektiven Schwierigkeit eingeschätzt. Die subjektive Einschätzung von „leicht möglich“, „schwer“ und „nicht möglich“ wurde durch den Operateur direkt im Anschluss an die Lokalisation vorgenommen und im Erfassungsbogen notiert (s. 2.5, 2.7).

3.5.4 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der *Clipmarkierung 1*

Eine subjektiv „leicht mögliche“ Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) wurde in n=7 Fällen (36,8%) angegeben (Tab. 3-4).

In n=3 (15,8%) *Clipmarkierungen 1* wurde die Tumorlokalisation als schwer möglich“ eingeschätzt.

Bei n=9 Fällen (37,4%) war eine *Clipmarkierung 1* „nicht möglich“.

Tabelle 3-4 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der *Clipmarkierung 1*

	Schwere	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozent	Kumulierte Prozent
Gültig	Leicht möglich	7	35,0	36,8	36,8
	Schwer möglich	3	15,0	15,8	52,6
	Nicht möglich	9	45,0	47,4	100,0
	Gesamt	19	95,0	100,0	
Fehlend	System	1	5,0		
Gesamt	20	100,0			

3.5.5 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der *Clipmarkierung 2*

Von den *Clipmarkierungen 2* wurden n=17 (89,5%) der Fälle als „leicht möglich“ beschrieben (Tab. 3-5).

In n=2 (10,5%) der *Clipmarkierungen 2* wurde die Schwierigkeit der Tumorlokalisation als „schwer möglich“ eingeschätzt.

In keinem der Fälle (n=0; 0%) war eine *Clipmarkierung 2* „nicht möglich“.

Tabelle 3-5 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der Clipmarkierung 2

	Schwere	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozent	Kumulierte Prozent
Gültig	Leicht möglich	17	85,0	89,5	89,5
	Schwer möglich	2	10,0	10,5	100,0
	Nicht möglich	0	0,0	0,0	100,0
	Gesamt	19	95,0	100,0	
Fehlend	System	1	5,0		
Gesamt	20	100,0			

3.5.6 Zusätzlicher Zeitaufwand

Zur Durchführung der *Clipmarkierung 2* musste zunächst eine Visualisierung der ICG-Fluoreszenz erfolgen, um somit den Tumor darstellen zu können (s. 2.3, 2.6). Es wurde die Zeitspanne ab Umschalten in den Nahinfrarotmodus der VISERA Pro bis zur Markierung (*Clip 2*) des Tumors gemessen. In Tabelle 3-6 sind die Zeitspannen nach Häufigkeit und in Prozent angegeben.

Durch die *Clipmarkierung 2* wurde ein zusätzlicher intraoperativer Zeitaufwand von 2 bis 5 Minuten notwendig. Der Median des zusätzlichen Zeitaufwands der *Clipmarkierung 2* lag bei 3 Minuten. In n=5 Fällen (26,3%) wurde für die *Clipmarkierung 2* ein zusätzlicher Zeitaufwand von 2 Minuten erforderlich. In n=6 (31,6%) *Clipmarkierungen 2* betrug der zusätzliche Zeitaufwand 3 Minuten.

Tabelle 3-6 Dauer der laparoskopischen Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*)

Zeitspanne in min	Häufigkeit	Prozent
2:00- 2:59	5	26,3
3:00-3:59	6	31,6
4:00-4:59	4	21,1
5:00	4	21,1

3.5.7 Vergleich der subjektiven Schwierigkeitsgrade

Eine Analyse der Daten zur subjektiven Schwierigkeit der Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) vs. mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) erfolgte anhand eines exakten Multinomialtests auf Symmetrie der Tabelle (s. Tab. 3-7) eines zweimal beobachteten nominalen Merkmals ($p=0,0004$).

Die Abbildung 3-1 zeigt zudem eine graphische Darstellung der subjektiven Schwierigkeit der *Clipmarkierungen 1* vs. *Clipmarkierungen 2*.

In der *Clipmarkierung 1* konnten $n=9$ (47,4%) der Fälle „nicht lokalisiert“ und *Clip 1*-markiert werden. Von diesen $n=9$ Tumoren, konnten alle der Tumore ($n=9$, 100%) mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) markiert werden. Von diesen $n=9$ „nicht möglichen“ *Clipmarkierungen 1* wurde $n=1$ (11,1%) der *Clipmarkierungen 2* als „schwer möglich“ und $n=8$ (88,9%) der *Clipmarkierungen 2* als „leicht möglich“ eingestuft.

Die Schwierigkeit der laparoskopischen Tumorlokalisationen ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) wurde in $n=3$ (15,8%) Fällen als „schwer möglich“ eingeschätzt. Von diesen $n=3$ Fällen wurden $n=1$ (33,3%) der *Clipmarkierungen* mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierungen 2*) als „schwer möglich“ und $n=2$ (66,7%) als „leicht möglich“ bewertet.

In $n=7$ (36,8%) Fällen wurde die laparoskopische Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) als „leicht möglich“ eingeschätzt. Von diesen $n=7$ *Clipmarkierungen 1* wurden $n=7$ (100%) der *Clipmarkierungen 2* als „leicht möglich“ eingestuft.

Von $n=2$ Fällen, die durch die *Clipmarkierung 2* als „schwer möglich“ eingeschätzt wurden, wurden $n=1$ (50%) der *Clipmarkierungen 1* als „schwer möglich“ und $n=1$ (50%) der *Clipmarkierungen 1* als „nicht möglich“ eingeschätzt.

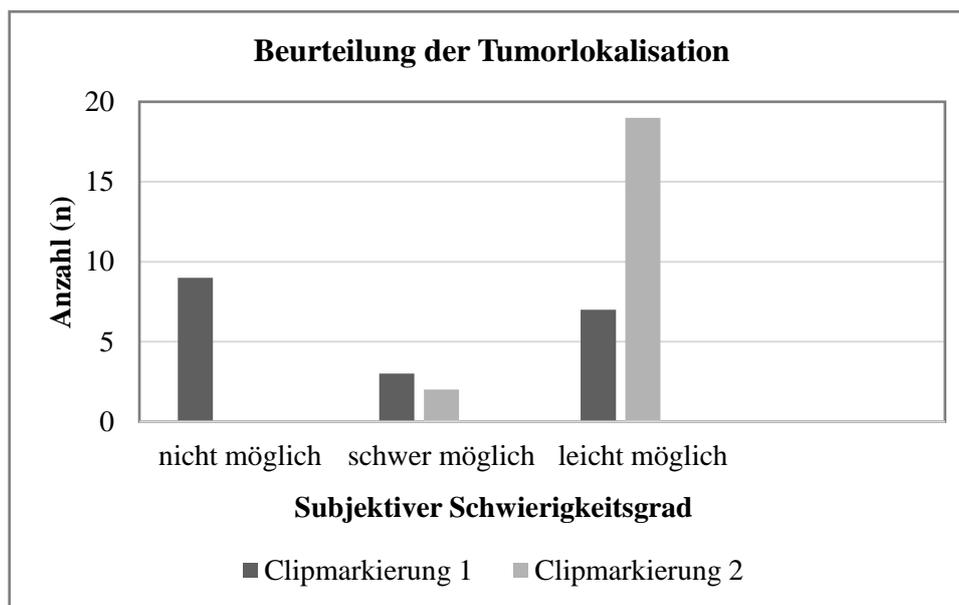
In $n=17$ Fällen (89,5%) wurde die *Clipmarkierung 2* als „leicht möglich“ angegeben. Von diesen $n=17$ „leicht möglichen“ *Clipmarkierungen 2* wurden $n=8$ (47,1%) *Clipmarkierungen 1* als „nicht möglich“, $n=2$ (11,8%) *Clipmarkierungen 1* als „schwer möglich“ und in $n=7$ (41,2%) *Clipmarkierungen 1* als „leicht möglich“ gewertet.

Die subjektive Schwierigkeit der laparoskopischen Tumorlokalisierung wurde mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) in n=10 Fällen (52,6%) leichter angegeben als ohne die ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*).

Tabelle 3-7 Kreuztabelle des subjektiven Schwierigkeitsgrades der laparoskopischen Tumorlokalisierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) vs. mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*)

			Schwierigkeitsgrad <i>Clip 2</i>		
			Schwer	Leicht	Gesamt
Schwierigkeitsgrad <i>Clip 1</i>	Nicht möglich	Anzahl	1	8	9
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 1</i>	11,1%	88,9%	100,0%
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 2</i>	50,0%	47,1%	47,4%
	Schwer	Anzahl	1	2	3
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 1</i>	33,3%	66,7%	100,0%
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 2</i>	50,0%	11,8%	15,8%
	Leicht	Anzahl	0	7	7
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 1</i>	0%	100,0%	100,0%
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 2</i>	0%	41,2%	36,8%
	Gesamt	Anzahl	2	17	19
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 1</i>	10,5%	89,5%	100,0%
		Prozent innerhalb von Schwierigkeitsgrad <i>Clip 2</i>	100,0%	100,0%	100,0%

Abbildung 3-1 Subjektiver Schwierigkeitsgrad der laparoskopischen Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (Clipmarkierung 1) vs. mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (Clipmarkierung 2)



3.5.8 Intraoperative Koloskopie und studienspezifische Komplikationen

Im Erfassungsbogen wurden studienspezifische Komplikationen durch das applizierte Indocyaningrün oder die Fluoreszenzbildgebung, sowie eine Begründung für das Nicht-Auffinden des Tumors für die *Clipmarkierungen 1* und *2* notiert (s. 2.6).

Eine endoskopische Markierung, sowie eine intraoperative Clipmarkierung der Tumore mit ICG-Fluoreszenzbildgebung gelang bei allen Patienten, eine Begründung für ein Nicht-Auffinden entfiel in diesem Fall. In $n=9$ (47,4%) der Fälle konnte keine *Clipmarkierung 1* erfolgen. Die mehrheitliche Begründung für eine „nicht mögliche“ *Clipmarkierung 1* war eine „zu unsichere“ oder „nicht mögliche“ Tumorlokalisation. Die Operateure gaben als Grund in allen 9 Fällen an, den Tumor laparoskopisch nicht ertasten zu können.

Im Erfassungsbogen wurde des Weiteren notiert, ob eine intraoperative Koloskopie zur Festlegung der Resektionsgrenzen notwendig wurde und wenn ja, ob es durch die Koloskopie zu Komplikationen kam.

Die Tabelle 3-8 gibt eine Übersicht über die Gründe für eine „nicht mögliche“ *Clipmarkierung 1* und über durchgeführte intraoperative Koloskopien.

Eine intraoperative Koloskopie zur Festlegung der Resektionsgrenzen wurde in $n=6$ der Untersuchungen (31,6%) durchgeführt. Fünf von diesen $n=6$ intraoperativen Koloskopien wurden durchgeführt, weil eine Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung

(*Clipmarkierung 1*) „nicht möglich“ war. In n=1 (16,7%) Fall war die *Clipmarkierung 1* zwar möglich, aber schwierig. Obwohl in allen n=6 (100%) Fällen eine Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) gelang, wurde bei diesen Patienten eine intraoperative Koloskopie durchgeführt. Aufgrund der eindeutigen Lokalisation mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) wurde, trotz n=9 (47,3%) „nicht möglicher“ *Clip 1*-Markierungen, in n=3 Fällen (15,8%) auf eine intraoperative Koloskopie verzichtet. Diese Entscheidung wurde ausschließlich vom Operateur und unabhängig von der Studienleitung getroffen. Komplikationen durch die durchgeführten intraoperativen Koloskopien traten nicht auf. In allen Fällen (n=6; 100%) entsprach die koloskopische, intraoperative Tumorlokalisierung derjenigen Tumorlokalisierung der *Clipmarkierung 2*.

Tabelle 3-8 Begründung der nicht-möglichen Clipmarkierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) und Angabe intraoperativer Komplikationen

Studien-Nr.	Begründung	Intraoperative Koloskopie erfolgt	Clip 1 gesetzt	Clip 2 gesetzt	Clip 2 im Bereich der intraop. Koloskopie
2	nicht erkannt, nicht tastbar	Ja	Nein	Ja	Ja
3	nicht erkannt, nicht tastbar	Ja	Nein	Ja	Ja
4	nicht erkannt, nicht tastbar	Ja	Nein	Ja	Ja
8	zu unsicher für eindeutige Clipmarkierung, Fluoreszenz auf Höhe intraoperativer Endoskopie	Ja	Ja	Ja	Ja
12	nicht tastbar	Nein	Nein	Ja	
15	nicht tastbar, nicht sichtbar	Nein	Nein	Ja	
16	zu unsicher für eindeutige Clipmarkierung	Nein	Nein	Ja	
17	weder visuell noch taktil auffindbar	Nein	Nein	Ja	
19	überhaupt keine Clipmarkierung ohne ICG möglich, kein Anhalt für Tumorlokalisierung, nicht tast- oder sichtbar	Ja	Nein	Ja	Ja
20	auch mit Erfahrung keine Clipmarkierung, kein Tumor tast- oder sichtbar	Ja	Nein	Ja	Ja

3.6 Vermessung des Resektates

Wie oben (s. 3.5) beschrieben, konnten in n=10 (52,6%) Fällen eine *Clipmarkierung 1* erfolgen. Der Median des Abstands zum Tumorrand der *Clipmarkierung 1* betrug 0cm (0-20cm), der mittlere Abstand 3,6cm ($\pm 6,2$ cm). Wie in Tabelle 3-9 dargestellt, gelang eine „exakte“ (0-2cm; s. 2.6) Tumorlokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) in n=7 (36,9%) Fällen. Davon waren in n=6 (85,7%) Fällen eine *Clipmarkierung 1* „exakt am direkten Tumorrand“ (0-0,4cm; s. 2.6) möglich. In n=3 (15,8%) der *Clipmarkierungen 1* war der Abstand zum Tumorrand größer als 2cm bis maximal 8cm. In n=12 (63,2%) der Fälle konnte keine „exakte“ *Clipmarkierung 1* erfolgen.

In n=9 (47,4%) der Fälle konnte keine *Clipmarkierung 1* erfolgen.

Bei einem Patienten (n=1) konnte der Operateur keinen eindeutigen Verdacht auf die Tumorlokalisation äußern, setzte aber dennoch einen Clip. Dieser Clip wurde mit einem Abstand von 20cm zum aboralen Tumorrand gesetzt und letztlich als „fehlende Markierung (FM)“ (s. 2.6) gewertet.

Die *Clipmarkierung 2* gelang wie bereits oben beschrieben (s. 3.5) in allen 19 Fällen. Der Median des Abstands zum Tumorrand der *Clipmarkierung 2* betrug 0cm (0-2cm), der mittlere Abstand 0,3cm ($\pm 0,7$ cm).

In n=19 (100%) der *Clipmarkierungen 2* konnten die Tumore „exakt“ (≤ 2 cm, s. 2.6) lokalisiert werden.

Eine noch genauere Lokalisation des Tumors „exakt am direkten Tumorrand“ (0-0,4cm; s. 2.6) gelang in n=15 (78,9%) der *Clipmarkierungen 2*.

Von den in der folgenden Tabelle 3-9 angegeben n=2 (10,5%) *Clipmarkierungen 2* mit einem Abstand von 2cm zum Tumorrand, wies n=1 (50%) der *Clipmarkierungen 2* einen Abstand von 1,5cm zum Tumorrand auf.

Tabelle 3-9 Abstand der Clipmarkierung 1 und 2 zum distalen Tumorrand

Abstand Tumorrand Clipmarkierung 1				Abstand Tumorrand Clipmarkierung 2		
Lokalisierung	Abstand	Anzahl	Prozent	Abstand	Anzahl	Prozent
Exakt	0 cm	6	31,6	0cm	15	78,9
				1cm	2	10,5
	2 cm	1	5,3	2cm	2	10,5
Nicht exakt	3 cm	1	5,3			
	7 cm	1	5,3			
	8 cm	1	5,3			
Fehlend	FM	8	42,1			
	20 cm	1	5,3			
Gesamt		19	100,0		19	100,0
Legende: FM= fehlende Markierung						

Die Differenzen der Abstände der Clipmarkierungen ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 1*) und mit ICG-Fluoreszenzbildgebung (*Clipmarkierung 2*) ergaben im Vorzeichentest eine statistische Signifikanz ($p < 0,0001$).

Eine Untersuchung mittels Wilcoxon-Tests (Tab. 3-10) für Paardifferenzen zeigte eine signifikant genauere Clipmarkierung mit Indocyaningrün-Fluoreszenzbildgebung ($\bar{x} = 3,64 \text{ cm}$) als ohne ($\bar{x} = 0,32 \text{ cm}$; asymptotischer Wilcoxon-Test: $z = -3,128$, $p = 0,002$, $n = 19$). Die Effektstärke nach Cohen [Cohen, 1992] lag bei $r = 0,72$ und entspricht einem starken Effekt (s. 2.9).

Tabelle 3-10 Wilcoxon-Test für Paardifferenzen für die Clipmarkierung 1 und Clipmarkierung 2

Ränge				
		n	Mittlerer Rang	Rangsumme
Abstand Tumorrand Clip 2-Abstand Tumorrand Clip 1	Negative Ränge	12 ^a	6,50	78,00
	Positive Ränge	0 ^b	0,00	0,00
	Bindungen	7 ^c		
	Gesamt	19		
a Abstand Tumorrand Clip 2 < Abstand Tumorrand Clip 1				
b Abstand Tumorrand Clip 2 > Abstand Tumorrand Clip 1				
c Abstand Tumorrand Clip = Abstand Tumorrand Clip 1				
Statistik für Wilcoxon-Test				
	Abstand Tumorrand Clip 2-Abstand Tumorrand Clip 1			
Z	-3,128 ^a			
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,002			
a basiert auf positiven Rängen				

3.7 T-Stadienverteilung und Tumorgröße

Der früh konvertierte Fall (s. 3) wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit in der folgenden Tabelle 3-11 nicht aufgeführt. Wie unter 3.6 bereits beschrieben, wurden n=7 (36,8%) der Tumore durch die *Clipmarkierung 1* „exakt“ (s. 2.6, 3.6) und n=19 (100%) der Tumore durch die *Clipmarkierung 2* „exakt“ markiert. Zusätzlich zur Tabelle 3-11 zeigt die Abbildung 3-2(a+b) die Verteilung der „exakt“ *Clip 1*- und *Clip 2*-markierten Tumore aufgeteilt nach Dignität bzw. T-Kategorie. In n=5 (26,3%) der Tumore handelte es sich um Adenome. Ein Carcinoma in situ (Tis) und T1-Stadium waren zu je n=1 (5,3%) zu finden. T2-Karzinome waren n=4 (21,1%) der Tumore. Die meisten Fälle (n=8; 42%) waren T3-Karzinome.

Tabelle 3-11 Vergleich der Tumorgröße in Korrelation zur T-Klassifikation und Clipmarkierung

Tumorgröße (cm)	T-Kategorie	Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisation			Genauigkeit der Tumorlokalisation	
		leicht	schwer	unmöglich	exakt	nicht exakt
0,6	Adenom	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
1	T2	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
1	T2	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
1,6	Tis	Clip 2	Clip 1		Clip 2	Clip 1
2	T2	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
2,5	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
2,6	T3		Clip 2	Clip 1	Clip 2	Clip 1
3	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
3,5	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
3,5	T2	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
4	Adenom	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
4,3	Adenom	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
4,5	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
4,5	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 1; Clip 2	
4,8	T3	Clip 2	Clip 1		Clip 1; Clip 2	
5	T1	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
5	Adenom	Clip 2		Clip 1	Clip 2	Clip 1
5,5	Adenom		Clip 1; Clip 2		Clip 2	Clip 1
7	T3	Clip 1; Clip 2			Clip 2	Clip 1

Von den zuvor genannten fünf Adenomen wurden n=1 (20%) der Fälle durch die *Clipmarkierung 1* „exakt“ markiert und n=5 (100%) durch die *Clipmarkierung 2*.

Wie in Abbildung 3-2a dargestellt, wurden von insgesamt n=6 der als Tis, T-1 und T2-klassifizierten Tumore n=0 (0%) durch die *Clipmarkierung 1* „exakt“ markiert und n=6 (100%) der *Clipmarkierungen 2* „exakt“ markiert.

Von den n=8 der T3-Tumoren wurden n=6 (75%) Tumore durch die *Clipmarkierung 1* „exakt“ und n=8 (100%) der Tumore in der *Clipmarkierung 2* „exakt“ markiert.

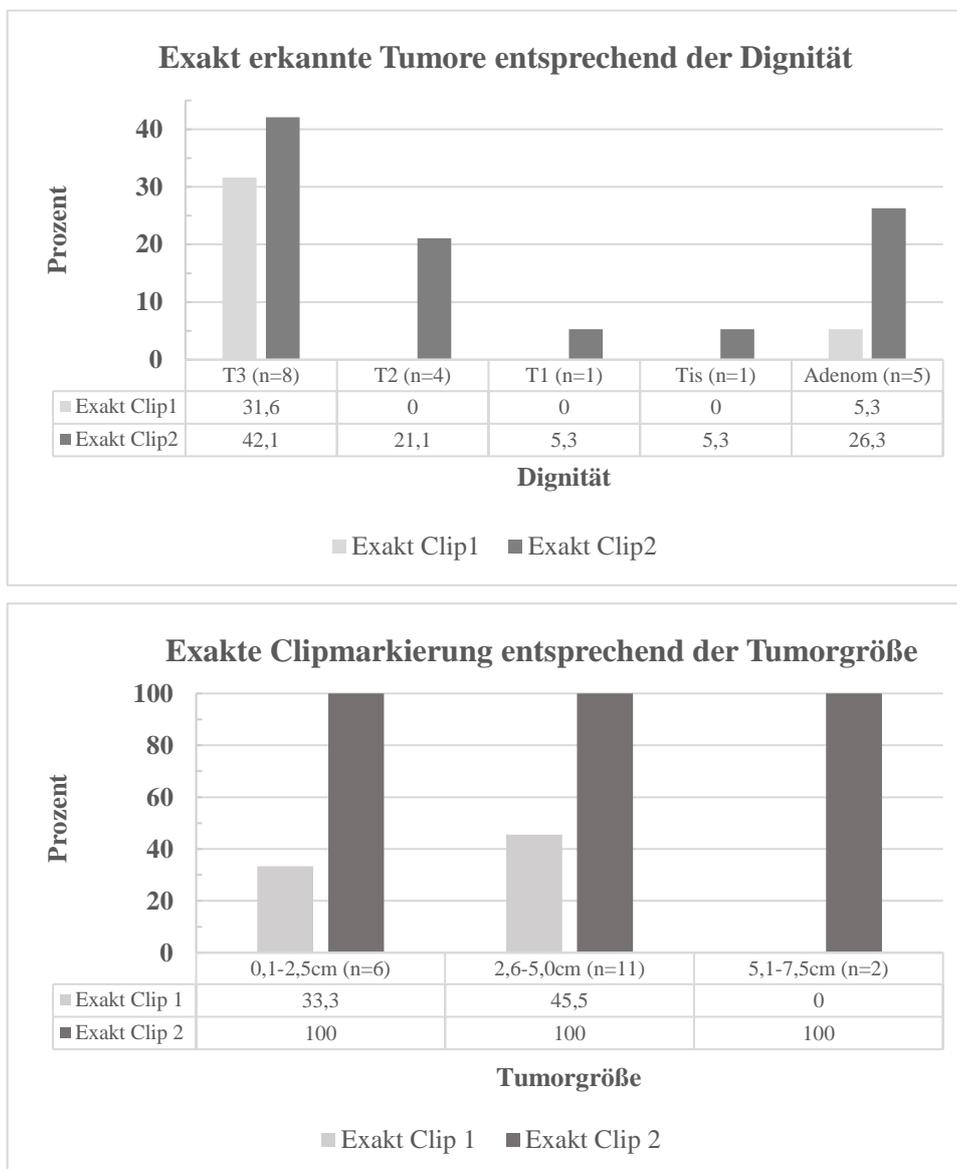
Alle Tumore wurden postoperativ vermessen und die Größe in Zentimetern angegeben (s. Tabelle 3-11). Die gemessene Tumorgöße betrug im Mittel 3,36cm ($\pm 1,7$ cm), mit einem Median von 3,5cm (0,6-7cm). Der kleinste gemessene Tumor war ein 0,6cm großes low grade Adenom und wurde sowohl in der *Clipmarkierung 1* als auch in der *Clipmarkierung 2* mit einem Abstand zum Tumorrand von je 0,0cm markiert. Dieses Adenom fand sich im Kolon sigmoideum mit bestehender Darmwandfibrose und segmentaler Stenose. Der größte Tumor war ein 7,0cm großes T3-Karzinom und wurde in der *Clipmarkierung 1* „nicht exakt“ und in der *Clipmarkierung 2* „exakt“ markiert. Hierbei handelte es sich um ein Lumen einengendes Sigmakarzinom mit Infiltration aller Wandschichten.

Die n=12 „nicht exakt“ *Clip 1*-markierten Tumore waren im Mittel 3,5cm ($\pm 1,7$ cm) groß und wurden in der *Clipmarkierung 2* alle „exakt“ *Clip 2*-markiert. Sie hatten zudem in der *Clipmarkierung 2* einen maximalen Abstand zum Tumorrand von 1,5cm und einen minimalen Abstand von 0cm. In n=9 (75%) dieser „nicht exakten“ *Clipmarkierungen 1* erfolgten die *Clipmarkierungen 2* in einem Abstand zum Tumorrand von 0cm (0,0-0,4cm).

Die restlichen n=3 (25%) der „nicht exakten“ *Clipmarkierungen 1* wurden in der *Clipmarkierung 2* in einem Abstand von 1,0 bis 1,5cm markiert. In n=8 (66,7%) der Fälle, in denen keine „exakte“ *Clipmarkierung 1* erfolgen konnte, waren die Tumore größer als 2cm. Der größte von diesen Tumoren hatte ein Ausmaß von 7,0cm. In n=4 (33,3%) Fällen der „nicht exakt“ *Clip 1*-markierten Tumore betrug die Tumorgöße ≤ 2 cm. Der kleinste von diesen Tumoren war 1,0cm groß. Von den „exakt“ *Clip 1*-markierten Tumoren wiesen n=6 (85,7%) Tumore eine Tumorgöße von über 2cm auf. Der größte dieser „exakt“ *Clip 1*-markierten Tumore war 4,8cm und der kleinste 0,6cm.

Von den „exakt“ *Clip 2*-markierten Tumoren waren $n=14$ (73,7%) größer als 2cm. Der größte dieser „exakt“ *Clip 2*-markierten Tumore war 7,0cm und der kleinste 0,6cm groß.

Abbildung 3-2 Verteilung der exakten *Clip*markierung entsprechend der a) Dignität und b) der Tumorgröße



4 Diskussion

In der Therapie des kolorektalen Karzinoms stellt die konventionell offen chirurgische Operation nicht mehr das alleinige operative Verfahren der Wahl dar. Die minimalinvasive Chirurgie nimmt mittlerweile einen festen Platz in der Therapie dieser Krebserkrankung ein. Auch wenn in zahlreichen Studien der Nutzen für den Patienten bereits dargestellt wurde [Schwenk et al., 2014; Germer, 2014; Kuhry et al., 2008; Liang et al., 2008; Milsom et al., 1998], sieht sich der Operateur bei diesem Verfahren mit einer Problematik konfrontiert, die sich in der offen chirurgischen Therapie eher ausnahmealber stellt. Laparoskopisch ist die Haptik im Vergleich zur offen chirurgischen Operationstechnik deutlich eingeschränkt [Holzman et al., 1997; Cho et al., 2007; Elarini et al., 2015]. Der Operateur kann zur Palpation ausschließlich Instrumentarien und nicht seine Hände nutzen. Dies erschwert die Tumorlokalisierung, insbesondere kleinerer Tumore, deutlich [Price et al., 2000; Arteaga-Gonzalez; 2006; Vignati et al., 1994; Yap et al., 2016]. Die Notwendigkeit für einfache und exakte Maßnahmen zur Tumorlokalisierung auch in minimalinvasiver Technik ist demnach evident. Eine leichte und sichere Tumorlokalisierung kann die Operationszeit verkürzen und zusätzliche Maßnahmen (intraoperative Koloskopie/ Konversion) könnten entfallen.

In zahlreichen Studien wurde der Nutzen der Tumormarkierung mithilfe eines geeigneten Farbstoffs bereits erprobt [Saunty und Knudtson, 1958; Pohl, 2013; Acuna et al., 2017]. So kamen unterschiedliche Autoren zu dem Schluss, dass fehlerhafte Trokar-Platzierungen, eine verlängerte OP-Dauer und Anästhesie, sowie das Resektionsausmaß unter Verwendung geeigneter intraoperativer Techniken zur Lokalisierung kolorektaler Tumore verhindert bzw. verbessert werden könnten [Piscatelli et al., 2005].

Zur präoperativen, endoskopischen Markierung kolorektaler Tumore ist Tusche als geeigneter Farbstoff am besten erforscht und aktueller Standard in der Verwendung [Rayees et al., 1996]. Bisher liegen wenige Daten zu weiteren Farbstoffen vor. Indocyaningrün ist ein Farbstoff, der unter Nahinfrarotlicht zum Leuchten angeregt wird. In der aktuellen Literatur existieren derzeit nur wenige Daten, ob dieser Farbstoff zur Markierung kolorektaler Tumore geeignet ist und ggf. Vorteile gegenüber etablierten Verfahren, wie Clip- oder Tuschemarkierungen in der Tumorlokalisierung für die laparoskopische Chirurgie existieren.

Die hier vorgelegte Arbeit überprüft anhand einer klinisch experimentellen Studie ob der Farbstoff Indocyaningrün als präoperativ endoskopisch appliziertes Markierungsmittel genutzt werden kann und kolorektale Tumore laparoskopisch mithilfe von Fluoreszenzbildgebung visualisiert werden können. Anhand eines Patientenkollektivs von n=20 Patienten wurden der subjektiv empfundene Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisierung, sowie die Exaktheit der Tumorlokalisierung mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung, verglichen. Die ausgewerteten Daten ergeben signifikante Vorteile für die ICG-Fluoreszenzbildgebung.

4.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Präoperativ wurde ein Patientenkollektiv von n=20 Patienten untersucht, intra- und postoperativ wurden, aufgrund einer studienunabhängigen Konversion der Operationstechnik, n=19 Patienten ausgewertet. Die im Vorfeld der Studie erfolgte statistische Fallzahlberechnung ergab n=19.

Studien zur Tumorlokalisierung mittels ICG-Fluoreszenzbildgebung in der Laparoskopie existieren bisher nur sehr wenige. Zum Zeitpunkt der Studienplanung und -Durchführung existierten keine Daten zu laparoskopischen Tumorlokalisationen mithilfe von ICG-Fluoreszenzbildgebung. Eine der ersten humanen Untersuchungen und Studien zur Lokalisation kolorektaler Tumore mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung erfolgte durch Watanabe et al. 2009 bei offen chirurgischen Eingriffen [Watanabe et al., 2009]. Hierbei wurde untersucht, ob frühe Stadien kolorektaler Karzinome und Adenome mittels Fluoreszenzbildgebung bei offen chirurgischen Operationen dargestellt werden könnten. Die von den Autoren genutzte CCD Kamera (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) zur Darstellung der Fluoreszenz war nicht für die Laparoskopie geeignet. Interessant war, dass die Operateure die Haptik nicht nutzten und die Tumore ausschließlich visuell aufsuchten. Diese optische Tumorsuche wurde mit und ohne die ICG-Fluoreszenzbildgebung durchgeführt. Dieser Aspekt war letztlich, für das in dieser Dissertationsschrift dargestellte Studiendesign, dienlich, da die Haptik in der Laparoskopie stark eingeschränkt ist. Das Patientenkollektiv von Watanabe et al. war mit einem n=10 sehr klein. Eine Fallzahlberechnung wurde nicht beschrieben, aber von einer signifikant leichteren Lokalisierung kolorektaler Tumore mit ICG-Fluoreszenzbildgebung als mit dem bloßen Auge berichtet [Watanabe et al., 2009]. Es wurden keine Nebenwirkungen, wie

beispielsweise Fieber oder abdominelle Schmerzen durch die ICG-Fluoreszenzbildgebung beschrieben. Histologische Untersuchungen der ICG-markierten Darmabschnitte zeigten keine Entzündungszeichen. Die Autoren konnten nachweisen, dass kolorektale Tumore mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung visualisiert werden konnten. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass es sich bei der ICG-Fluoreszenzbildgebung um ein sicheres und effektives Verfahren zur intraoperativen Lokalisation kolorektaler Tumore handelt.

Humane Studien zur Tumorlokalisierung mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung in der Laparoskopie wurden erstmals 2016 veröffentlicht [Ozawa et al., 2016; Nagata et al., 2016]. Hierbei erprobten die Autoren eine endoskopische Markierung kolorektaler Läsionen mit ICG und untersuchten die intraoperativen laparoskopischen Visualisierungen mithilfe von ICG-Fluoreszenzbildgebung (s. 1.4, 1.5). Beide Studien wiesen, ähnlich zur hier vorgestellten Studie, ein kleines Patientenkollektiv mit $n=3$ [Ozawa et al., 2016] und $n=24$ [Nagata et al., 2016] auf. Eine Fallzahlberechnung wurde nicht beschrieben, aber von signifikanten Ergebnissen hinsichtlich einer sicheren und effektiven Lokalisierung kolorektaler Tumore mithilfe von ICG-Fluoreszenzbildgebung berichtet.

Im Vorfeld der hier vorgelegten Untersuchung erfolgte eine umfassende statistische Beratung mit Fallzahlberechnung.

4.2 Problematik der endoskopischen Tumorlokalisierung

Zur endoskopischen Tumorlokalisierung wurde der Kolonrahmen zuvor in 5 Abschnitte unterteilt. Dies sollte eine schnelle und einfache Dokumentation der Tumorlokalisierung ermöglichen. In der Literatur wird zur Untersuchung der korrekten Lage kolorektaler Tumore zumeist der Kolonrahmen, in mehr als 7 Abschnitte gegliedert und das Rektum getrennt betrachtet [Vignati et al., 1994; Cho et al. 2007; Piscatelli et al., 2005]. Um eine signifikante Aussage über die korrekte endoskopische Lokalisation und Höhenangabe treffen zu können, erscheint diese erweiterte Unterteilung in mehr als 5 Abschnitte, sowie eine Differenzierung zwischen Kolon und Rektum sinnvoll. Die Genauigkeit der endoskopischen Tumorlokalisierung war jedoch nicht Bestandteil dieser hier vorgestellten Untersuchung, weshalb die vereinfachte Einteilung beibehalten wurde.

In unterschiedlichen Studien konnte nachgewiesen werden, dass die für den Operateur in der Laparoskopie so wichtige Lokalisationsangabe zur Tumorlokalisierung häufig fehlerhaft war

[Vignati et al., 1994; Cho et al., 2007; Yap et al., 2016; Acuna et al. 2017]. Wie bereits erwähnt, war die Lokalisationsgenauigkeit in der hier vorgelegten Studie nicht zentraler Bestandteil der Fragestellung, da sie die Anwendung einer Tumormarkierung begründet, sei sie dennoch erläutert. Bereits 1994 wurde durch Vignati et al. untersucht, wie zuverlässig die endoskopische Lokalisation kolorektaler Karzinome ist. In der genannten Studie wurden n=320 Patienten untersucht und die endoskopische Lokalisation mit der tatsächlichen, intraoperativen Lokalisation verglichen. Insgesamt wurden n=44 (14%) Tumore inkorrekt lokalisiert. Diese Anzahl schloss zudem 7 Karzinome ein, die endoskopisch nicht detektiert und erst intraoperativ gefunden werden konnten [Vignati et al., 1994]. Die Autoren wiesen darauf hin, dass dies in der offen chirurgischen Therapie in nur seltenen Fällen zu Problemen führe. Dennoch zeigte diese frühe Studie, den nicht unerheblichen Anteil falsch lokalisierter Tumore. Eine aktuelle und aufschlussreiche Übersicht gibt eine 2017 veröffentlichte Meta-Analyse [Acuna et al., 2017]. Hier wurde eine systematische Überprüfung der Fehlerursachen bei der Tumorlokalisierung mehrerer, präoperativer, endoskopischer Techniken dargestellt und zusammenfassende Informationen zu Risikofaktoren für Lokalisierungsfehler und verfahrensbedingte unerwünschte Ereignisse gegeben. In diese Analyse wurden n=38 nicht-randomisierte, kontrollierte und Beobachtungsstudien mit insgesamt 2578 Patienten inkludiert, die sich einer konventionellen Koloskopie unterzogen hatten. Bei 643 war eine koloskopische Markierung erfolgt. Zusammenfassend ergab sich eine Inzidenz für eine fehlerhafte konventionelle, koloskopische Lokalisierung von 15,4%. In dieser Meta-Analyse konnten bereits unterschiedliche Farbstoffe als Markierungsmittel untersucht werden. Tusche stellte hierbei die weitaus häufigste (n=11 Studien) Markierungsfarbe dar. Indocyaningrün wurde in n=2 Studien benutzt. Die Autoren kamen zusammenfassend zum Schluss, dass es sich bei den untersuchten Markierungen von kolorektalen Tumoren um sichere Verfahren handelte, die eine kleinere Fehlerrate als die konventionelle koloskopische Tumorlokalisierung aufwiesen. Die Autoren forderten eine routinierte, koloskopische Markierung kolorektaler Tumore. Das zu verwendende Markierungsmittel wurde nicht benannt.

In der hier vorgelegten Studie wurden n=20 kolorektale Tumore endoskopisch mit Indocyaningrün markiert und die Tumorlokalisierung in einem der zuvor genannten 5 Abschnitte des Kolons angegeben. Es kam zu n=2 differierenden, intraoperativen Lokalisationen des Tumors, entsprechend einer prozentualen Fehlerquote von 10%, die leicht unter der in der Literatur angegebenen Fehlerquote von 11-21% liegt [Vignati et al.,

1994; Piscatelli et al., 2005; Acuna et al., 2017]. Die in der Literatur angegeben hohen Fehlerraten haben insbesondere für die Laparoskopie aus genannten Gründen Bedeutung.

In der hier vorgelegten Arbeit gelang in allen Fällen eine komplikationsfreie Applikation von ICG, die im Median 1 Tag (0-4 Tage) präoperativ erfolgte.

Obwohl die Markierung der Tumore durch unterschiedliche Ärzte erfolgte, muss dennoch beachtet werden, dass die überwiegende Mehrzahl der Markierungen durch einen erfahrenen Oberarzt erfolgte (n=15; 75%). Cho et al. wiesen in ihrer Studie darauf hin, dass die korrekte endoskopische Lokalisation stark von der Erfahrung und der Expertise des jeweiligen Endoskopikers abhängt [Cho et al., 2007]. Aufgrund dessen, dass es bei keinem der vier Endoskopierenden zu Problemen in der Markierung kam, weist dies auf eine stabile Methodik hin. In einer 2005 veröffentlichten Studie, in der die Fehlerrate endoskopischer Lokalisierungen kolorektaler Tumore anhand von 236 Läsionen untersucht wurde, zeigten die Autoren eine beachtliche Fehlerrate von 21% auf [Piscatelli et al., 2005]. Interessant war allerdings, dass die Expertise des Endoskopikers scheinbar keinen signifikanten Einfluss hatte.

In weiteren Studien sollte -wie in der vorliegenden Arbeit geschehen- darauf geachtet werden, dass die Applikationsebene definiert ist. Interessant wäre außerdem zu untersuchen, wie sehr die Erfahrung unterschiedlicher Endoskopiker die ICG-Darstellung beeinflussen würde. Zudem wäre zu untersuchen, ob fehlerhafte Applikationen, wie beispielsweise intramurale/transmurale oder zu weit vom Tumor entfernte Injektionen, zu einem Auslaufen des Farbstoffs führen würde, bzw. wie weit sich der Farbstoff im Kolon bzw. Rektum verteilen würde oder ob dies durch den Einsatz der Fluoreszenzbildgebung keinen Einfluss hat.

4.3 Markierungsmittel Tusche (India ink.) vs. Indocyaningrün

Wie bereits beschrieben (s. 4.2) stellt die Tusche-Markierung den aktuellen Standard in der Markierung kolorektaler Tumore dar [Rayees et al., 1996]. Trotz der vielen Vorteile der Tuschemarkierung ist dieses Verfahren nicht komplikationsfrei und es wurden in unterschiedlichen Studien verschiedene Nebenwirkungen wie beispielsweise Dickdarmabszesse mit lokalisierter Peritonitis, Adhäsionen, Entzündungsreaktionen und weitere beschrieben [Coman et al., 1991; Gianom et al., 2003; Botoman et al., 1994;

Bahardsursingh et al., 2003; Yano et al., 2003]. Nur wenige alternative Markierungsmittel wurden bisher erprobt. In verschiedenen Tierversuchen und einigen wenigen humanen Studien wurde Indocyaningrün als zu Tusche gleichwertiger Farbstoff eingeschätzt [Price et al., 2000; Lee et al., 2000; Miyoshi et al., 2009; Watanabe et al., 2009]. In der o.g. Studie von Acuna et al. wurden bereits unterschiedliche Farbstoffe zur endoskopischen Markierung kolorektaler Tumore (s. 1.2.2, 4.2) untersucht und deren Nebenwirkungsprofile dargestellt [Acuna et al., 2017]. Indocyaningrün wurde als grüner Farbstoff zur Markierung kolorektaler Läsionen in n=2 Studien eingesetzt. ICG wurde als gleichwertiges Markierungsmittel zu Tusche beschrieben. Da es sich bei den ICG-Markierungen um eine sehr kleine Anzahl von Studien (n=2) handelte, ist die generelle Übertragbarkeit jedoch fraglich.

In einer 2009 veröffentlichten Studie konnte anhand von n=40 Patienten nachgewiesen werden, dass die Markierung kolorektaler Läsionen mittels Indocyaningrün ein sicheres, effektives und gleichwertiges Verfahren zur Tuschemarkierung darstellt [Miyoshi et al., 2009]. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine Markierung mit Indocyaningrün auch beim Menschen eine sichere und gut gewebeverträgliche Variante darstellt. Hierbei wurden 5ml Indocyaningrün bei insgesamt 41 Läsionen injiziert und mit Tusche verglichen. Die grüne Färbung der Serosa des Kolons oder der anterioren Rektumwand durch das ICG war bis zu 8 Tage makroskopisch gut sichtbar. Danach ließ die grüne Verfärbung zunehmend nach. Indocyaningrün weist neben der intensiven grünen Farbe die Eigenschaft auf, unter Nahinfrarotlicht zu fluoreszieren. Es sei darauf hingewiesen, dass die fluoreszierenden Eigenschaften von Indocyaningrün in den beiden genannten Studien [Acuna et al., 2017; Miyoshi et al., 2009] nicht berücksichtigt wurden.

Die ersten humanen Untersuchungen zur Fluoreszenzbildgebung mithilfe von ICG wurden 2016 veröffentlicht. International existieren bis heute nur vereinzelte Studien zur laparoskopischen Lokalisierung kolorektaler Läsionen mithilfe von ICG-Fluoreszenzbildgebung. Ozawa et al. untersuchten anhand eines sehr kleinen Patientenkollektivs (n=3), ob mittels submuköser Applikation von Indocyaningrün mithilfe eines speziellen Kamerasystems (PINPOINT®) kolorektale Tumore intraoperativ, laparoskopisch visualisiert werden können. In diesem Studiendesign erfolgte eine präoperative simultane Gabe von ICG und Tusche ein bis zwei Tage präoperativ. In allen drei Fällen konnten die Tumore durch das PINPOINT® problemlos visualisiert werden. Bei zwei von drei Patienten konnten die Tumore mittels konventioneller Tuschemarkierung

nicht detektiert werden. Ursächlich wurden eine Darmwandverdickung und eine dicke Fettschicht der Darmwand genannt. Die Autoren zeigten, dass es sich bei der ICG-Markierung um ein nützliches Verfahren handelt, die eine Echtzeitdarstellung kolorektaler Tumore während laparoskopischer Operationen erlaubt.

In einer weiteren Studie, die ebenfalls 2016 veröffentlicht wurde, kamen die Autoren zu einem vergleichbar positiven Ergebnis für die ICG-Fluoreszenzdarstellung. Hierbei wurde anhand eines ähnlichen Studiendesigns bei n=24 Patienten getestet, ob sich durch Nahinfrarot, LED-aktiviertes ICG zur Lokalisierung kolorektaler Tumore in der Laparoskopie eignet [Nagata et al., 2016]. Die Tumore wurden bis zu 4 Tage präoperativ, simultan mit Tusche und ICG koloskopisch markiert. Zuerst erfolgte die Tusche-Markierung in der Nähe, anschließend die ICG-Injektion auf der anderen Seite der Läsion. Ob die Injektion oral oder aboral des Tumors, bzw. in die Submukosa erfolgte, wurde von den Autoren nicht beschrieben. Intraoperativ wurde zunächst die Tuschemarkierung unter Weißlicht aufgesucht und anschließend die ICG-Markierung unter Nahinfrarot-LED (D-Light, Karl Storz, Tutlingen, Deutschland) mit 760nm. Alle Tumore (n=24; 100%) konnten mittels ICG dargestellt werden, dagegen konnten bei n=10 (41%) Patienten die Tuschemarkierungen nicht erkannt werden. Ein Bias aufgrund der gewählten Reihenfolge der Tumorlokalisierung lässt sich nicht ausschließen. Die histopathologische Auswertung der Resektate ergab keine durch ICG ausgelösten pathologischen Auffälligkeiten, es zeigten sich lediglich minimale Schwellungen des submukösen Raumes. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine Lokalisierung kolorektaler Läsionen mittels der von ihnen angewandten „double-injection technique“ im Sinne einer simultanen Markierung mit ICG und Tusche empfohlen werden kann und es sich um ein sicheres Verfahren handeln würde. Sie gaben außerdem an, dass die Fluoreszenzbildgebung auch dann eine hohe Sensitivität aufweisen könnte, wenn eine schwarze oder grüne Färbung unter Weißlicht nicht sichtbar sei. Mithilfe dieser Studie stellten die Autoren dar, dass es sich bei ICG um ein mögliches und sicheres Markierungsmittel handeln könnte. Kritisch betrachtet wurden von den Autoren das zusätzliche Equipment zur Visualisierung des ICG und somit auch die ca. 1,5fachen zusätzlichen Kosten, die präoperative zeitliche Koordinierung der Koloskopie und ICG-Markierung in Bezug auf die Operation und die kleine Fallzahl [Nagata et al., 2016].

In der hier vorgelegten Studie sollte untersucht werden, ob Tumore, die zuvor ausschließlich mit ICG markiert wurden, intraoperativ mit einem geeigneten Kamerasystem,

laparoskopisch sichtbar gemacht werden könnten. Die Applikationsform von Indocyaningrün in die Submukosa entspricht hierbei der Applikationsebene von Tusche. Die in der aktuellen Literatur angegebenen Mengen der applizierten Tusche liegen zwischen 0,2 und 0,5ml und meist in unverdünnter Form [Ponsky und King, 1975; McArthur et al., 1999; Lee et al., 2000; Trakarnsanga und Akaraviputh, 2011; Ozawa et al., 2016].

In der hier vorgelegten Arbeit wurden geringe Mengen des Farbstoffs Indocyaningrün verwandt. In den Fällen 1 bis 18 wurden 2x 0,25ml appliziert (s. 2.3). Die bis zu dieser hier vorgelegten Untersuchung bestehenden Daten der bislang wenigen humanen Studien wiesen darauf hin, dass eine Menge von 0,5ml ICG-Lösung zur Sichtbarmachung ausreicht und sogar unterschritten werden könnte [Watanabe et al., 2009; Nagata et al., 2016; Ozawa et al., 2016]. Indocyaningrün weist ein geringes Nebenwirkungsprofil auf [Cherrick, 1960; Baumgartner, 1975; Gebrauchsinformation, 2015]. Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen von Indocyaningrün, bei denen es sich vornehmlich um urtikarielle und anaphylaktische Reaktionen handelt, werden in der Literatur mit einem Risiko von $1 < 10000$ angegeben [Benya et al., 1989; Roenneberg, 2013; Gebrauchsinformation, 2015]. Price et al. gaben in ihrer Studie an, dass hohe Konzentrationen von ICG (1%) mittelschwere bis schwere Mukosadefekte verursachen können. In weiteren Studien mit niedrigerer ICG-Konzentration (0,25%) [Watanabe et al., 2009; Nagata et al., 2016; Ozawa et al., 2016] traten keine Mukosa- oder Serosadefekte, verursacht durch die ICG-Injektion auf. Ein weiterer Vorteil dieser geringen Menge ist, dass es bei versehentlich transmuraler Injektion zu keiner störenden Verfärbung des Situs kommt, da es in dieser Menge nur zu einer minimalen Grünfärbung des Gewebes kommt.

In der Praxis erwiesen sich die zuvor im Studienprotokoll festgelegten 2x 0,25ml jedoch als nicht optimal. Die einheitlichen Spritzen, die in der klinischen Praxis Verwendung finden, haben als Maßeinheiten in der Regel als kleinste Unterteilung 0,1ml, sodass sich die Gabe von 0,25ml als wenig praktikabel erwies. Eine Beschränkung im Protokoll auf die ICG-Konzentration ohne genaue Milliliter-Angabe hätte ein größeres Volumen mit entsprechender Verdünnung zugelassen und letztlich bei selber Konzentration die Applikation vereinfacht. Aufgrund der bis Fall 18 von 20 erhobenen, guten Ergebnisse zur Sichtbarkeit der genannten Menge ICG, wurde in den letzten beiden Fällen, die Menge ICG probatorisch auf 0,1ml reduziert. Diese Menge erforderte jedoch ein gewisses Geschick des Koloskopierenden bei der Applikation. Die auf 0,1ml reduzierte Menge ICG konnte

intraoperativ gut sichtbar gemacht werden und die *Clipmarkierungen 2* auch bei reduzierter ICG-Menge „exakt am direkten Tumorrand“ erfolgen. Die Daten in der bisher erhobenen Literatur weisen darauf hin, dass die Standardmenge für die Tuschemarkierung 0,2ml darstellt [Ponsky und King, 1975; McArthur et al., 1999; Lee et al., 2000; Trakarnsanga und Akaraviputh 2011; Ozawa et al., 2016]. Die von uns erhobenen Daten weisen darauf hin, dass noch kleinere Mengen als 2x 0,1ml für Indocyaningrün möglich wären. Dies könnte Kosten für das verwendete ICG einsparen, eine unnötig hohe Medikamentengabe verhindern, eine Grünfärbung des Gewebes noch weiter minimieren, eine Belastung des Organismus durch einen Fremdkörper reduzieren oder den Tumor noch präziser darstellen. Es bedarf aber weiterer Untersuchungen mit größerem Patientenkollektiv (n) und vergleichenden Ergebnissen.

Im Gegensatz zu Tusche wird Indocyaningrün innerhalb von ca. 14 Tagen fast vollständig abgebaut [Askin et al., 2002]. Wie bereits beschrieben weist Indocyaningrün eine effektive HWZ von 2,4min auf und wird vollständig hepatisch abgebaut. In der Studie von Miyoshi et al. wurde ICG in der präoperativen Koloskopie submukös appliziert [Miyoshi et al, 2009]. Hierzu wurden 25mg in 2ml steriles Wasser aufgelöst und für jede Injektion 1ml der Lösung injiziert. Zunächst wurden 2ml steriles Wasser tangential in die Submukosa injiziert, um eine submuköse Schwellung zu provozieren. Anschließend wurden 1ml ICG, sowie 2ml steriles Wasser um das restliche, im System verbleibende ICG (1ml) in die genannte Schwellung einzubringen. Acht Tage nach ICG-Injektion wurde die hervorgerufene, grüne Färbung in der Serosa des Kolons, oder der anterioren Wand des Rektums als schwächer werdend eingeschätzt bis sie letztlich verschwand. Eine Infrarotdarstellung zur Fluoreszenzbildgebung fand keine Anwendung.

In der jüngsten Literatur konnte ICG mit Fluoreszenzbildgebung mindestens 4 Tage sichtbar gemacht werden [Watanabe et al., 2009; Nagata et al., 2016; Ozawa et al., 2016]. Die vollständige Eliminierung von Indocyaningrün kann durchaus als Vorteil angesehen werden [Miyoshi et al., 2009]. Bei einer beispielsweise versehentlich transmuralen Applikation kommt es im Gegensatz zu Tusche zu keiner langanhaltenden Belastung durch einen Fremdkörper. In der hier vorgelegten Untersuchung war die maximale Zeitspanne zwischen endoskopischer Tumormarkierung und laparoskopischer Visualisierung 4 Tage. Price et al. beschrieben anhand einer tierexperimentellen Studie, dass Tusche vor allem aufgrund seiner Langzeitwirkung Vorteile gegenüber ICG hätte [Price et al., 2005]. Die kurze Sichtbarkeit

von maximal 14 Tagen wird meist als negativ eingeschätzt [Askin et al., 2002]. Das langfristige Anfärben durch Tusche von mehreren Jahren [Elarini et al., 2015], kann aber auch nachteilig für den Patienten sein. Werden beispielsweise Absetzungsstellen von endoskopisch abgetragenen Polypen mit Tusche markiert, um diese Stellen (bei erhöhtem Entartungspotential) im Verlauf zu kontrollieren [Zafar et al., 2012], könnte es zu intraoperativen Schwierigkeiten kommen. So könnten zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit Tusche markierte Läsionen den Operateur irritieren oder fehlleiten [Elarini et al., 2015; Alonso et al., 2018]. Würde man nun beispielsweise Absetzungsstellen endoskopisch abgetragener Polypen mit Tusche markieren und operationspflichtige Läsionen mit ICG, wäre eine Unterscheidung in lang- und kurzfristige Markierungen mit entsprechender Option zur Verlaufskontrolle möglich. Diese Überlegungen könnten in künftige Untersuchungen aufgenommen werden.

Die von uns erhobenen Daten weisen auf eine konstante Sichtbarkeit von ICG innerhalb eines Messzeitraumes von bis zu 4 Tagen hin. Diese Zeitspanne ist für die klinische Praxis sehr kurz und letztlich ein limitierender Faktor. In der klinischen Praxis sind Operationszeitpunkte oft von mehreren Variablen abhängig. Eine Operation abhängig von der endoskopischen Markierung zu planen, könnte sich in der klinischen Praxis als schwierig erweisen. Die Endoskopie müsste demnach in die präoperative Vorbereitung, wenige Tage vor der Operation fallen. Dies bedeutet wiederum, dass in den meisten Fällen vermutlich eine zusätzliche Koloskopie notwendig würde. Bisher veröffentlichte Untersuchungen mit ICG-Fluoreszenzbildgebung zur intraoperativen Detektion kolorektaler Läsionen geben bereits größere Visualisierungs-Zeiträume von bis zu 8 Tagen an [Miyoshi et al., 2009]. Es ist anzunehmen, dass durch die fluoreszierenden Eigenschaften des Farbstoffs auch eine längere Visualisierung von Tumoren als 8 Tage möglich wäre. Es bleibt abzuwarten und bedarf weiterer Untersuchungen ob auch größere Zeitfenster möglich sind. Grundsätzlich ist ICG bis zu 14 Tage makroskopisch sichtbar und wird vollständig aus dem Körper eliminiert, ob dieses Zeitfenster uneingeschränkt auf die Tumordarstellung übertragbar ist, bleibt abzuwarten [Askin et al., 2002; Miyoshi et al., 2009]. Es muss jedoch weiter untersucht werden, bis zu welchem Zeitpunkt eine sichere Visualisierung von ICG-markierten Tumoren durch Fluoreszenzbildgebung möglich ist.

4.3.1 Erfassungsbogen

Der Erfassungsbogen wurde unterteilt in „Patientendaten“, „endoskopische ICG-Markierung“, „Operation“ und „Postoperativ“. In der hier vorgelegten Studie war die endoskopische Lokalisationsgenauigkeit der Tumore nicht zentraler Bestandteil der Fragestellung. Beim Erstellen des Erfassungsbogens wurde die Tumorlokalisierung lediglich endoskopisch und nicht erneut intraoperativ notiert. Die Daten zur tatsächlichen Tumorlokalisierung konnten nachträglich unproblematisch anhand von Operationsberichten und Histopathologie-Befunden eruiert werden. Dies stellte jedoch einen unnötigen Mehraufwand dar und hätte direkt intraoperativ erfragt und erfasst werden sollen.

Die Lokalisationsschwere wurde anhand eines ordinal skalierten Fragebogens erfasst und hatte den Vorteil, dass eine leichte und genaue Datenerfassung möglich war. Es wurde darauf geachtet, dass die Fragen zur *Clipmarkierung 1* identisch zur *Clipmarkierung 2* waren, um einen unmittelbaren Vergleich zu ermöglichen. Um die Operation nicht unnötig zu verlängern, wurden die Fragen so kurz wie möglich gehalten. Ein Bias aufgrund der Reihenfolge mit Beginn der subjektiven Beurteilung mit der *Clipmarkierung 1* und erst anschließender *Clipmarkierung 2* lässt sich hierbei nicht ausschließen. Interessant wäre es, in zukünftigen Untersuchungen die Reihenfolge umzukehren.

Initial geplant war eine Erfassung der Distanz des aboralen bzw. distalen Tumorrandes zum Zentrum der Fluoreszenzmarkierung, sowie die Angabe des Durchmessers der Fluoreszenzmarkierung. Diese beiden Parameter konnten aber nicht einheitlich erfasst werden und wurden aus dem Protokoll entfernt.

Interessant wäre gewesen, den zeitlichen Mehraufwand, entstanden durch die intraoperativen Koloskopien ebenfalls zu erfassen um eine Gegenüberstellung des Zeitaufwands der ICG-markierten Tumorlokalisierung mit dem Zeitaufwand der intraoperativen Koloskopie direkt vergleichen zu können. In einer 2012 durchgeführten Untersuchung von Gorgun et al. wurden anhand von 30 Patienten Daten zu Komplikationen durch die intraoperative Koloskopie während laparoskopischer Kolonresektionen mit einer Kontrollgruppe von ebenfalls n=30 verglichen. Hierbei kam es zu einer durch die intraoperative Koloskopie verursachten Verlängerung der Operationszeit von durchschnittlich 132 (± 60) auf 151 (± 90 Minuten) Minuten [Gorgun et al., 2013].

Die initial angedachte Unterteilung der Tumorlokalisierung (mesenterial, antimesenterial, lateral) ließ sich nicht adäquat erheben und wurde im Verlauf aus dem Erfassungsbogen entfernt. Das postoperative Tumorstadium wurde vom histopathologischen Befund übernommen. Für die in dieser Studie untersuchte Fragestellung stellte das genaue TNM-Stadium jedoch eine untergeordnete Information dar, interessanter waren letztlich die Tumorgröße und das T-Stadium, worauf schlussendlich auch der Fokus fiel (s. 3.3).

4.4 Intraoperative Messdaten

Muss für Patienten im Verlauf einer laparoskopischen Operation konvertiert werden, ist die Problematik der eingeschränkten Haptik nicht mehr gegeben. Der Operateur hat hierbei die Möglichkeit, den Kolonrahmen abzutasten und dementsprechend den Tumor zu lokalisieren, bei kleinen Tumoren kann jedoch auch dies schwierig sein. Es kann die Operation deutlich vereinfachen, wenn der Operateur bereits zum Zeitpunkt der Konversion einen sicheren Hinweis auf die Tumorlokalisierung hat. So können unnötig große Schnittführungen oder Präparation des falschen Kolonsegmentes schon frühzeitig vermieden werden. Dies bedeutet für den Patienten eine Vermeidung unnötiger Operationsschritte und eine Verkürzung der Operationszeit. Diese Vorteile sind jedoch nicht spezifisch für die ICG-Markierung, sondern könnten auch bei der Markierung kolorektaler Tumore mit Tusche bestehen. Piscatelli et al. wiesen bereits in ihrer Studie darauf hin, dass eine adäquate Kombination von Lokalisierungstechniken, wie bspw. die simultane präoperative Markierung von Tumoren mit ICG und Tusche, besonders für die laparoskopische Chirurgie sinnvoll erscheinen [Piscatelli et al., 2005]. Interessant wäre eine weitere laparoskopische Studie, in der Tusche- und ICG-markierte Tumore und deren Lokalisation direkt miteinander verglichen würden. Erste Ansätze diesbezüglich erfolgten bereits durch Nagata et al. (s. 1.6, 4.3).

In einer Meta-Analyse von Acuna et al. (s. 1.2., 1.3.1, 4.2, 4.3) waren limitierte Daten zur Markierung von kolorektalen Tumoren mit ICG (n=2) vorhanden, in denen alle Tumore lokalisiert wurden. Ein direkter Vergleich zur Markierung mit Tusche wurde nicht dargestellt [Acuna et al., 2017].

Aktuell existieren keine Studien, in denen explizit die laparoskopische Lokalisationsgenauigkeit oder -schwere von Tusche- vs. ICG-markierten Tumoren untersucht würden. Zum Untersuchungszeitpunkt existierten des Weiteren keine Studien zur laparoskopischen Lokalisation kolorektaler Tumore unter Zuhilfenahme der ICG-

Fluoreszenzbildgebung. Studien, in denen der Schwierigkeitsgrad der laparoskopischen Tumorlokalisierung mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung anhand eines Fragebogens eruiert wurde, liegen derzeit nicht vor.

4.4.1 Auswertung der Fragebögen zum subjektiven Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisierung

Die Auswertung der erhobenen Daten ergab, dass die Operateure die Lage der Tumore mit ICG-Fluoreszenzbildgebung als insgesamt leichter lokalisierbar einschätzten als ohne. Ein nicht unerheblicher Anteil der Tumore konnte ohne die ICG-Fluoreszenzbildgebung nicht sicher lokalisiert werden. Besonders bemerkenswert erscheint es, dass es unter ICG-Fluoreszenzbildgebung keinmal misslang den Tumor zu lokalisieren. Die hohe Anzahl (n=17; 89,5%) der als „leicht lokalisierbar“ eingeschätzten *Clipmarkierungen 2*, weisen auf eine deutlich vereinfachte Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung hin. In der vorliegenden Arbeit konnten Tumore mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung um 52,6% leichter dargestellt werden als ohne. Von den Tumoren, die ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung nicht erkannt wurden, gelang es unter Fluoreszenzbildgebung sogar in 8 von 9 Fällen (88,9%) diese leicht darzustellen.

Nicht auszuschließen ist, dass die Reihenfolge der Clipmarkierungen einen Einfluss auf die Beurteilung des subjektiven Schwierigkeitsgrades der Tumorlokalisierung hatte. Das hier untersuchte Patientenkollektiv stellt verbundene Stichproben dar, in der zuerst die Clipmarkierung unter visuell-taktilen Kriterien und anschließend unter ICG-Fluoreszenzbildgebung untersucht wurde. Es wurde die immer gleiche Reihenfolge eingehalten.

Als „schwer lokalisierbar“ wurden n=2 *Clipmarkierungen 2* eingeschätzt. Auffällig war, dass die zuvor durchgeführten *Clipmarkierungen 1* ebenso als „schwer“ bzw. als „nicht lokalisierbar“ eingeschätzt wurden. Ein Bias aufgrund der zuvor getätigten negativen Einschätzung mit dem bekannten Verfahren ist nicht gänzlich auszuschließen. Möglich wäre, dass sich ohne die voran gegangene Markierung ohne ICG, ein noch deutlicheres Ergebnis zugunsten der ICG-Fluoreszenzbildgebung ergeben hätte. Interessant wären künftige Untersuchungen mit bspw. umgekehrter Clipmarkierung und Bewertung.

Ozawa et al. beschrieben anhand weniger Fälle (n=2), dass eine Tumorlokalisierung mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung auch dann gut möglich sei, wenn Tusche-markierte

Tumoren aufgrund von Adhäsionen oder ausgeprägtem mesenterialen Fett nicht detektiert werden konnten [Ozawa et al., 2016]. Interessant wäre, ob sich die genannten Vorteile für die ICG-Fluoreszenzbildgebung in weiteren Studien bestätigen lassen würden.

4.4.2 Lokalisationsgenauigkeit anhand der Vermessung des Resektates

Die Abstände der *Clipmarkierungen 1* und der *Clipmarkierungen 2* ergaben im Vorzeichentest signifikante Unterschiede ($p < 0.0001$). Von den $n=12$ (63,2%) „nicht exakten“ *Clipmarkierungen 1* wurden alle ($n=12$; 100%) *Clipmarkierungen 2* „exakt“ markiert. Dies stellte eine beachtliche Anzahl von Clipmarkierungen dar, die mit ICG-Fluoreszenzbildgebung genauer am aboralen Tumorrand erfolgten als ohne.

Die Betrachtung mittels Wilcoxon-Tests ($p=0,0002$), sowie der Effektstärke nach Cohen ($r=0,72$) [Cohen, 1992] ergaben signifikante Ergebnisse mit einem starken Effekt.

4.4.3 Zusätzlicher Zeitaufwand

Der durch die ICG-Fluoreszenzbildgebung zusätzliche Zeitaufwand wurde in der hier vorgestellten Studie mit einem mittleren Wert von 3 Minuten angegeben. Dieser zusätzliche Zeitaufwand ist insgesamt als äußerst gering anzusehen. Vorteilhaft war in der hier erhobenen Untersuchung, dass zur intraoperativen Bildgebung der ICG-Fluoreszenz ein laparoskopisches Kamerasystem genutzt wurde, welches neben der regulären Bildfunktion in der Lage war, über die eingebrachte Lichtquelle Nahinfrarotlicht abzugeben und gefiltertes Licht aufzunehmen. Ein intraoperativer Kamerawechsel zur Visualisierung der ICG-Fluoreszenz entfiel. Dementsprechend konnte ein zusätzlicher Zeit- und Mehraufwand minimiert werden.

4.4.4 Intraoperative Koloskopie und studienspezifische Komplikationen

Studienpezifische Komplikationen wurden direkt im Anschluss an die ICG-Markierung und an die Operation notiert. Eine Erfassung von Langzeitkomplikationen erfolgte nicht. Das Komplikationsrisiko durch eine ICG-Markierung wird einheitlich als sehr gering eingeschätzt [Miyoshi et al., 2009; Lee et al., 2000; Gelbe Liste, 2017].

In $n=9$ (47,4%) Fällen konnte keine *Clipmarkierung 1* erfolgen, wohingegen alle ($n=19$; 100%) *Clipmarkierungen 2* möglich waren. Ist sich der Operateur während einer laparoskopischen kolorektalen Resektion bezüglich der Tumorlokalisierung unsicher, kann eine intraoperative Koloskopie zur Tumorlokalisierung erfolgen. Hierbei handelt es sich um

ein sicheres, jedoch nicht unkompliziertes Verfahren [Nagata et al., 2016]. Sie ist stark von der Expertise des Koloskopierenden abhängig und es kommt für den Operateur zu einer nicht unerheblichen Sichteinschränkung durch die geblähten Darmschlingen [Vignati et al., 1994; Carus, 2010; Nagata et al., 2016]. Wie jedes invasive Verfahren, ist auch die intraoperative Koloskopie nicht ohne Risiken und bedeutet einen zusätzlichen Zeitaufwand. Die Hauptkomplikationen sind, wie bei der konventionellen Koloskopie, Blutungen und Perforationen [de'Angelis et al., 2018; Lohsiriwat et al., 2008] In der hier vorgestellten Studie wurden aufgrund einer zu „unsicheren“ oder „nicht-möglichen“ Lokalisation ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung 6 intraoperative Koloskopien durchgeführt. Als Begründung für die Notwendigkeit der intraoperativen Koloskopie wurde fast einheitlich als ursächlich ein „nicht tastbarer“ Tumor angegeben. Durch den Einsatz der ICG-Fluoreszenzbildgebung hätte in dem untersuchten Kollektiv auf alle intraoperativen Koloskopien verzichtet werden können.

Aufgrund des Studienprotokolls wurde festgelegt, dass eine intraoperative Koloskopie erfolgen muss, wenn der Operateur sich ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung unsicher über die Tumorlokalisierung ist. Da es sich um ein neues Verfahren handelt, wurden, wie im Ethikantrag genehmigt, die Operateure auf die studienunabhängige Entscheidung zur oder gegen die intraoperative Koloskopie hingewiesen.

4.5 T-Stadienverteilung und Tumorgöße

Im Erfassungsbogen wurden, die routinemäßig beschriebenen histopathologischen Befunde erfasst. Für die Auswertung zur Beantwortung der hier vorgestellten Fragestellung waren letztlich die Daten zur Tumorgöße und lokalen Tumorausdehnung (T-Stadium) relevant.

In Abbildung 3-2(a+b) ist die Verteilung der „exakt“ *Clip 1*- und *Clip 2*-markierten Tumore aufgeteilt nach Dignität bzw. T-Stadium dargestellt. In der vorgelegten Studie wurden von insgesamt n=5 Adenomen alle (n=5; 100%) durch die *Clipmarkierungen 2* „exakt“ und n=1 (20%) durch die *Clipmarkierungen 1* „exakt“ markiert. Durch die *Clipmarkierung 1* wurde keines der Carcinomae in situ (Tis), T1-, oder T2-Tumoren „exakt“ markiert. Von den genannten Tumoren waren alle (n=6) *Clipmarkierungen 2* „exakt“. Von den insgesamt n=8 histologisch gesicherten T3-Karzinomen wurden n=6 (75%) „exakt“ *Clip 1*-markiert und alle (n=6; 100%) „exakt“ *Clip 2*-markiert.

In diversen Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine Markierung kolorektaler Tumore, insbesondere für frühe Tumorstadien und Adenome sinnvoll ist [Vignati et al., 1994; Cho et al., 2007; Piscatelli et al., 2005; Yap et al., 2016; Alonso et al., 2018]. Übereinstimmend sind in der hier vorgelegten Studie besonders kleine und frühe Tumorstadien mithilfe der ICG-Fluoreszenzbildgebung leichter und genauer lokalisiert worden. Überraschend dagegen war, dass auch von den fortgeschrittenen Tumorstadien (T3), sowie großen Tumoren (>2,5cm) deutlich weniger Tumore ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung „exakt“ markiert wurden.

Wie der Tabelle 3-11 zu entnehmen, war der kleinste gemessene Tumor ein 0,6cm großes low grade Adenom. Interessant ist hierbei, dass dieser kleine Tumor sowohl durch die *Clipmarkierung 1* als auch durch die *Clipmarkierung 2* „exakt“ markiert wurde. Dieser Tumor fand sich im Sigma und es wurde eine laparoskopische Diskontinuitätsresektion des Sigmas nach Hartmann durchgeführt. Die Operationsindikation ergab sich hierbei vor allem durch eine Sigmastenose und Fibrose bei ausgeprägter Sigmadivertikulitis. Im pathologischen Befund wird direkt an das tubuläre Adenom ein 1,5cm großer, kalkharter Knoten beschrieben. Eine Beeinflussung durch diesen, mit den laparoskopischen Instrumenten leichter zu palpierenden Knoten, zugunsten der *Clipmarkierung 1* ist im Nachhinein schwierig zu beantworten, erscheint aber möglich.

Der größte von den hier dargestellten Tumoren, ein 7,0cm großes T3-Karzinom, wurde dagegen ausschließlich in der *Clipmarkierung 2* „exakt“ markiert und wies in der *Clipmarkierung 1* einen 3cm großen Abstand zum Tumorrand auf. Dieser Tumor befand sich ebenfalls im Kolon sigmoideum und wird im pathologischen Befund als flach-polypöser, breitflächiger Tumor beschrieben. In der Regel ist im T3-Stadium die Subserosa affektiert, was laparoskopisch von außen am Darm sichtbar erscheint. Im genannten Fall wird der Tumor jedoch als bis an die Serosa heranreichend, jedoch nicht eindeutig penetrierend beschrieben. Diese Faktoren könnten die laparoskopische Lokalisation in der *Clipmarkierung 1* erschwert haben.

Des Weiteren fällt auf, dass 8 von 12 „nicht exakt“ *Clip 1*-markierter Tumore größer als 2cm waren. Es liegt die vorsichtige Vermutung nahe, dass auch Patienten mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium und einem großen Tumor von der Lokalisierung mittels ICG-Fluoreszenzbildgebung profitieren.

Die Aussagekraft der hier dargestellten Ergebnisse ist aufgrund der kleinen Fallzahl, sowie der geringen Anzahl der Subgruppen für die einzelnen T-Stadien stark limitiert. Des Weiteren sind die Tumorgrößen nicht homogen verteilt, was eine generelle Aussage unmöglich erscheinen lässt. Bisherige Studien beschreiben vor allem den Vorteil einer Tumormarkierung für kleinere Läsionen und frühe Tumorstadien [Vignati et al., 1994; Cho et al., 2007; Piscatelli et al., 2005; Yap et al., 2016; Alonso et al., 2018].

4.5.1 Klinische Bedeutung und Nutzen der Studie

In der laparoskopischen Chirurgie können Tumore erschwert visuell und taktil detektiert werden. Eine präoperativ durchgeführte Tuschemarkierung oder auch eine intraoperative Koloskopie sind nicht ohne Risiken für den Patienten und nicht immer hilfreich [Vignati et al., 1994; Carus, 2010; Nagata et al., 2016]. Der Nutzen für die Studienteilnehmer und Patienten mit kolorektalen Tumoren besteht aus einer sicheren Tumorlokalisierung durch die ICG-Färbung und Darstellung mithilfe der Fluoreszenzbildgebung bei einer laparoskopischen Kolonresektion.

Die Daten dieser Studie weisen darauf hin, dass eine Visualisierung zuvor mit ICG-markierter Tumore problemlos möglich ist. Mithilfe eines geeigneten Kamerasystems, wie beispielsweise dem Visera Pro (Olympus®, Hamburg, Deutschland) kann eine einfache und genaue Tumorlokalisierung ermöglicht werden. In der hier vorgelegten Studie wurden den ethischen Richtlinien folgend und zur Einhaltung der Patientensicherheit, Koloskopien unabhängig von der ICG-Fluoreszenzbildgebung durchgeführt. Das Vermeiden einer intraoperativen Koloskopie hat eine Verkürzung der Operationszeit zur Folge. Der Operationssitus wird außerdem nicht durch geblähte Darmschlingen verändert. Ein weiterer Vorteil wäre die Reduktion des Personalaufwandes.

Ein weiterer positiver Aspekt der ICG- gegenüber der gängigen Tusche-Markierung kommt bei einer transmuralen Injektion mit Austritt der Tusche ins freie Abdomen zum Tragen. Ozawa et al. beschrieben, dass eine Visualisierung von Tumoren mithilfe von ICG unabhängig von der Injektionsstelle möglich ist [Ozawa et al., 2016]. Während bei der Tuscheanwendung der OP-Situs stark verfärbt wird, ist die farbliche Veränderung bei der ICG-Markierung für den Operateur kaum ausgeprägt oder störend.

Der zusätzliche Zeitaufwand, der durch die Fluoreszenzbildgebung notwendig wird, ist gering. In der hier dargestellten Studie wurden alle Tumore innerhalb eines Zeitfensters von 4 Tagen präoperativ markiert und visualisiert. Miyoshi et al. wiesen in ihrer Studie bereits auf eine zeitliche Limitation des Farbstoffs hin, der für die klinische Praxis nicht unerheblich zu sein erscheint [Miyoshi et al., 2009].

Abschließend lassen sich folgende Erkenntnisse aus den erhobenen Daten gewinnen und die initiale Fragestellung folgendermaßen beantworten:

- Eine präoperative Markierung kolorektaler Tumore mit einem geeigneten Farbstoff ist für die laparoskopische Chirurgie anzuraten. Der Farbstoff Indocyaningrün kommt hierbei infrage und imponiert durch ein geringes Nebenwirkungsprofil.
- Eine alleinige präoperative, endoskopische Markierung ist mit ICG problemlos möglich. Die so markierten Tumore können unter Nahinfrarot-Fluoreszenztechnik aufgefunden werden.
- Eine Tumorlokalisierung gelingt mithilfe der Fluoreszenzbildgebung leichter als ohne.
- Die Ergebnisse der hier dargestellten Studie weisen auf eine signifikant leichtere und genauere Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung hin als ohne. Es ist davon auszugehen, dass auch bei einem größeren Patientenkollektiv der Vorteil der ICG-Fluoreszenzbildgebung überwiegt. Die initial angenommene exakte Lokalisierung mit ICG von 80%, wurde um 20%-Punkte übertroffen. Die angenommene exakte Lokalisierung ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung mit 30%, entspricht annähernd der hier erhobenen korrekten Lokalisation von 36,8%.
- Intraoperative Koloskopien könnten durch dieses Verfahren reduziert werden.

Die hier vorgestellte Studie weist jedoch auch Limitationen auf:

- Die dargestellte Fallzahl ist sehr gering. Insbesondere innerhalb der Subgruppen, wie beispielsweise der T-Stadien fällt die inhomogene Verteilung der Fälle auf. Eine generelle Übertragbarkeit bleibt bei so wenigen Studienteilnehmern fraglich.
- Das Verfahren ist noch nicht sehr verbreitet und bedarf Übung in der Handhabung. Es existieren bisher nur wenige Vergleichswerte.
- Es bedarf eines speziellen Kamerasystems, das in der Lage ist, die Fluoreszenz zu visualisieren. In der hier vorgestellten Studie musste intraoperativ kein Kamera-Wechsel stattfinden, da Visera Pro (Olympus®, Hamburg, Deutschland) in der Lage ist, zwischen herkömmlichem laparoskopischem Bild und Fluoreszenzbildgebung zu wechseln. Ist dies jedoch nicht der Fall, kann ein Kamerawechsel umständlich sein und zu verlängerten Operationszeiten führen. Durch die zusätzlichen Materialien ist die ICG-Fluoreszenzbildgebung mit ca. 1,5fach höheren Kosten verbunden [Lee et al., 2000; Nagata et al., 2016].

- Der Kolonrahmen wurde vor Studienbeginn in 5 Abschnitte unterteilt, eine Unterscheidung zwischen Rektum und Kolon fand nicht statt. In der Therapie und Diagnostik unterscheiden sich Kolon- und Rektumkarzinome jedoch. Eine Unterteilung erscheint daher sinnvoll.
- Es fand keine Untersuchung und Auswertung zu etwaigen Limitationen für die Visualisierung wie beispielsweise ausgeprägtes viszerales Fett, Adhäsionen, BMI oder ähnliche konstitutionell bedingte Erschwernisse statt. Die Beeinflussung durch diese oder ähnliche Faktoren sollte in zukünftigen Studien bedacht werden.
- Es kann aktuell keine eindeutige Aussage darüber gemacht werden, wie viele intraoperative Koloskopien letztlich eingespart werden würden. In der hier genannten Studie sollte die Entscheidung zur intraoperativen Koloskopie unabhängig von der ICG-Markierung gestellt werden. Rektumkarzinome bedürfen außerdem keiner vollständigen Koloskopie, sondern lediglich einer Rektoskopie, die intraoperativ problemlos möglich ist.
- Die hier dargestellte Untersuchung stellt primär eine Machbarkeitsstudie dar, Aussagen darüber ob ICG besser geeignet ist als andere Markierungsmittel können nicht getroffen werden.

Zusammenfassend weisen die erhobenen Daten darauf hin, dass es sich bei der ICG-Fluoreszenzbildgebung um ein sicheres und effektives Verfahren zur Detektion kolorektaler Tumore während laparoskopischer Operationen handelt. In weiteren Studien sollte untersucht werden, ob ICG als Farbstoff mit Tusche als Goldstandard konkurrieren kann. Unsere Daten weisen darauf hin, dass die ICG-Fluoreszenzbildgebung diesbezüglich ein hohes Potential aufweist.

Bisher existieren nur wenige Studien in Hinblick auf die präoperativen Zeitfenster. Es bedarf weiterer Studien, um valide Aussagen treffen zu können, wie lange eine ICG-Fluoreszenzbildgebung kolorektaler Tumore sicher möglich ist.

In weiteren Studien sollte eine Unterscheidung zwischen der Lokalisation von Kolontumoren und Rektumtumoren stattfinden. In weiteren randomisierten Untersuchungen sollte ein direkter Vergleich der Lokalisation von ICG- und Tusche-markierten Kolon- oder Rektumtumoren erfolgen.

Eine Betrachtung von Einflussfaktoren, wie BMI, viszerales Fett oder Voroperationen als Limitationen der ICG-Markierung oder als direkten Vergleich zur Tuschemarkierung wäre zudem sehr interessant und wichtig für die klinische Anwendung.

Interessant wäre außerdem, ob die Lage des Tumors, beispielsweise dorsal, einen Einfluss auf die Lokalisation mit ICG-Fluoreszenzbildgebung hat. Müssen unnötige Mobilisationen des Kolons erfolgen, um den Tumor adäquat visualisieren zu können?

Zeichnet sich bei größeren Studien mit stärkeren Subgruppen ein geeignetes Patientenkollektiv ab, das von der ICG-Markierung besonders profitiert? Ist die Markierung von Kolontumoren mit ICG generell zu empfehlen oder eignet sie sich besonders für kleinere Tumore mit chirurgisch schwer zugänglicher Lokalisation?

5 Zusammenfassung

Kolorektale Karzinome stellen weltweit eine sehr häufige onkologische Erkrankung dar. Neben der konventionellen (offen chirurgischen) Operation, hat sich die laparoskopische Chirurgie in den letzten Jahren als ein ebenbürtiges Therapieverfahren behaupten können. Im Vergleich zur offenen, kolorektalen Chirurgie ist die Haptik in der laparoskopischen Chirurgie eingeschränkt. Die laparoskopische Chirurgie ist auf eine genaue und einfache Lokalisierung kolorektaler Karzinome angewiesen. Eine leichte und sichere intraoperative Tumorlokalisation kann zur Verkürzung der Operationszeit führen und Zusatzmaßnahmen (intraoperative Koloskopie, Konversion etc.) verhindern. Aktueller Standard in der präoperativen Markierung kolorektaler Läsionen stellt die Tusche-Markierung dar. Diese ist nicht ohne Risiken für den Patienten. In der aktuellen Literatur existieren bisher nur wenige Daten zu alternativen Farbstoffen.

Anhand einer prospektiven, klinisch-experimentellen Machbarkeitsstudie mit n=20 Patienten, wurde ein neues diagnostisches Verfahren geprüft. Es wurde untersucht, ob sich kolorektale Tumore mit dem Farbstoff Indocyaningrün markieren und während der laparoskopischen Operation mit einem geeigneten Kamerasystem adäquat visualisieren lassen.

Hierfür wurde bei allen Studienteilnehmern 1 bis 4 Tage präoperativ der Farbstoff Indocyaningrün endoskopisch an den aboralen Tumorrand appliziert. Intraoperativ wurde der jeweilige Tumor als erstes ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung aufgesucht und mit einem Clip (Titan) markiert. Als zweite Untersuchung erfolgte das Auffinden des Tumors mit ICG-Fluoreszenzbildgebung und Applizieren eines Kunststoff-Clips. Die Operateure gaben zudem den subjektiv empfundenen Schwierigkeitsgrad der Tumorlokalisation mit und ohne ICG-Fluoreszenzbildgebung an. Am Resektat wurden die Abstände der Clips zum Tumorrand dokumentiert und die postoperative histopathologische Untersuchung ergab das jeweilige Tumorstadium.

Bei allen Studienteilnehmern gelang eine präoperative koloskopische Tumormarkierung mit dem Farbstoff Indocyaningrün. Von diesen markierten Patienten konnten n=19 Fälle vollständig in die Studie inkludiert werden. Eine Messung konnte aufgrund studienunabhängiger Faktoren mit frühzeitiger, intraoperativer Konversion nicht erfolgen.

Die Auswertung des subjektiv empfundenen Schwierigkeitsgrades der Tumorlokalisierung ergab eine signifikant leichtere Lokalisation mit ICG-Fluoreszenzbildgebung als ohne.

Der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen ergab eine signifikant genauere Lokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung als ohne. Die Effektstärke nach Cohen lag bei $r=0,72$ und entspricht einem starken Effekt.

Tumore des Kolorektums sollten bei geplanter laparoskopischer Resektion präoperativ mit einem geeigneten Farbstoff markiert werden. Indocyaningrün erscheint aufgrund der vorliegenden Ergebnisse hierfür geeignet. Eine laparoskopische Tumorlokalisierung von präoperativ ICG-markierter Tumore gelingt mithilfe intraoperativer Infrarot-Fluoreszenzbildgebung signifikant leichter als ohne ICG-Markierung. Die erhobenen Daten zeigen eine signifikant genauere Tumorlokalisierung mit ICG-Fluoreszenzbildgebung als ohne. Zusatzmaßnahmen, wie intraoperative Koloskopien, könnten durch die Verwendung dieses Verfahrens reduziert werden.

Die dargestellten Daten weisen darauf hin, dass es sich bei der ICG-Fluoreszenzbildgebung um ein sicheres und effektives Verfahren zur Detektion kolorektaler Tumore während laparoskopischer Operationen handelt. Für die routinemäßige Implementierung sind weitere prospektive Studien notwendig, die Daten der vorliegenden Arbeit sollten bei einer Studienplanung berücksichtigt werden.

6 Literaturverzeichnis

- Acuna S.A., Elmi M., Shah P.S., Coburn N.G., Queresby F.A.: Preoperative localization of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *SurgEndosc*; 31: 2366-2379; 2017
- Alonso S., Pérez S., Argudo N., Latorraca J.I., Pascual M., Álvarez M.A., Seoane A., Barranco L.E., Grande L., Pera M.: Endoscopic tattooing of colorectal neoplasms removed by laparoscopy: a proposal for selective marking. *Rev Esp Enferm Dig*; 110: 25-29; 2018
- Andreola S., Leo E., Belli F., Lavarino C., Bufalino R., Tomasic G., Baldini M.T., Valvo F., Navarra P., Lombardi F.: Distal intramural spread in adenocarcinoma of the lower third of the rectum treated with total rectal resection and coloanal anastomosis. *Dis Colon Rectum*; 40: 25-9; 1997
- Appelt A.L., Pløen J., Harling H., Jensen F.S., Jensen L.H., Jørgensen J.C., Lindebjerg J., Rafaelsen S.R., Jakobsen A.: High-dose chemoradiotherapy and watchful waiting for distal rectal cancer: a prospective observational study. *Lancet Oncol*; 16: 919-27; 2015
- Arteaga-González I., Martín-Malagón A., Fernández E.M., Arranz-Durán J., Parra-Blanco A., Nicolas-Perez D., Quintero-Carrión E., Luis H.D., Carrillo-Pallares A.: The use of preoperative endoscopic tattooing in laparoscopic colorectal cancer surgery for endoscopically advanced tumors: a prospective comparative clinical study. *World J Surg*; 30: 605-11; 2006
- Askin M.P., Waye J.D., Fiedler L., Harpaz N.: Tattoo of colonic neoplasms in 113 patients with a new sterile carbon compound. *Gastrointest Endosc*; 56: 339-42; 2002
- Bahardursingh A.M.; Driver M., Koenig C.L., Longo W.E.: Inadvertent transmural India ink tattooing simulating intestinal infarction. *Am J Surg*; 185: 88-9; 2003
- Becker H., Hohenberger W., Junginger T., Schlag P.M.: *Chirurgische Onkologie. Kolonkarzinom.* Thieme Verlag, Stuttgart-New York; 2002
- Benya R., Quintana J., Brundage B.: Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc Diagn*; 17: 231-233; 1989
- Bode J.G. und Nitschmann S.: Koloskopische Polypektomie zur Kolonkarzinomprävention. (German). *Der Internist*; 54: 263; 2013

- Bokey E.L., Ojerskog B., Chapuis P.H., Dent O.F., Newland R.C., Sinclair G.: Local recurrence after curative excision of the rectum for cancer without adjuvant therapy: role of total anatomical dissection. *Br J Surg*; 86: 1164-70; 1999
- Boni L., Fingerhut A., Marzorati A., Rausei S., Dionigi G., Cassinotti E.: Indocyanine green fluorescence angiography during laparoscopic low anterior resection: results of a case-matched study. *Surg Endosc*; 31: 1836-1840; 2017
- Botoman V.A., Pietro M., Thirlby R.C.: Localization of colonic lesions with endoscopic tattoo. *Dis Colon Rectum*; 37: 775-6; 1994
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A.: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*; 68: 394–424; 2018
- Brenner H., Kloor M., Pox C.P.: Colorectal cancer. *Lancet*. 26; 383: 1490-1502; 2014
- Carus T. Kapitel 20: laparoskopische Eingriffe am Kolon, aus *Operationsatlas Laparoskopische Chirurgie*, 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 202-203; 2010
- Chan A.T., Giovannucci E.L., Meyerhardt J.A., Schernhammer E.S., Curhan G.C., Fuchs C.S.: Long-term use of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of colorectal cancer. *JAMA*; 294: 914-23; 2005
- Chen C.C., Yang S.H., Lin J.K., Lin T.C., Chen W.S., Jiang J.K., Wang H.S., Chang S.C.: Is it reasonable to add preoperative serum level of CEA and CA19-9 to staging for colorectal cancer? *J Surg Res*; 124: 169-74; 2005
- Cherrick G.R., Stein S.W., Leevy C.M., Davidson C.S.: Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest*; 39:592-600; 1960
- Chin C.C., Wang J.Y., Changchien C.R., Huang W.S., Tang R.: Carcinoma obstruction of the proximal colon cancer and long-term prognosis--obstruction is a predictor of worse outcome in TNM stage II tumor. *Int J Colorectal Dis*; 25: 817-22; 2010
- Cho Y.B., Lee W.Y., Yun H.R., Lee W.S., Yun S.H., Chun H.K.: Tumor localization for laparoscopic colorectal surgery. *World J Surg.*; 31: 1491-5; 2007
- Cohen J.: A power primer. *Psychol Bull.*; 112(1):155-9. 1992

- Coman E., Brandt L.J., Brenner S., Frank M., Sablay B., Bennett B.: Fatnecrosis and inflammatory pseudotumor due to endoscopic tattooing of the colon with India ink. *Gastrointest Endosc*; 37:65-8; 1991
- Dawson H., Kirsch R., Messenger D., and Driman D.: A Review of Current Challenges in Colorectal Cancer Reporting. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*; 143: 869-882; 2019
- de'Angelis N., Di Saverio S., Chiara O., Sartelli M., Martínez-Pérez A., Patrizi F., Weber D.G., Ansaloni L., Biffl W., Ben-Ishay O., Bala M., Brunetti F., Gaiani F., Abdalla S., Amiot A., Bahouth H., Bianchi G., Casanova D., Coccolini F., Coimbra R., de'Angelis G.L., De Simone B., Fraga G.P., Genova P., Ivatury R., Kashuk J.L., Kirkpatrick A.W., Le Baleur Y., Machado F., Machain G.M., Maier R.V., Chichom-Mefire A., Memeo R., Mesquita C., Salamea Molina J.C., Mutignani M., Manzano-Núñez R., Ordoñez C., Peitzman A.B., Pereira B.M., Picetti E., Pisano M., Puyana J.C., Rizoli S., Siddiqui M., Sobhani I., Ten Broek R.P., Zorcolo L., Carra M.C., Kluger Y., Catena F.: 2017 WSES guidelines for the management of iatrogenic colonoscopy perforation. *World J Emerg Surg*.; 13:5; 2018
- Elarini T., Wexner S.D., Isenberg G.A.: The need for standardization of colonoscopic tattooing of colonic lesions. *Dis Colon Rectum*; 58(2):264-7; 2015
- Ellis K.K. und Fennerty M.B.: Marking and identifying colon lesions. Tattoos, clips, and radiology in imaging the colon. *Gastrointest Endosc Clin N Am.*;7(3):401-11; 1997
- Feingold D.L., Addona T., Forde K.A., Arnell T.D., Carter J.J., Huang E.H., Whelan R.L.: Safety and reliability of tattooing colorectal neoplasms prior to laparoscopic resection. *J Gastrointest Surg*.; 8(5):543-6; 2004
- Fielding L.P., Arsenault P.A., Chapuis P.H., Dent O., Gathright B., Hardcastle J.D., Hermanek P., Jass J.R., Newland R.C.: Clinicopathological staging for colorectal cancer: an International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J Gastroenterol Hepatol*: 325-44; 1991
- Fleshman J., Sargent D.J., Green E., Anvari M., Stryker S.J., Beart R.W. Jr., Hellinger M., Flanagan R. Jr., Peters W., Nelson H.: Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. Laparoscopic colectomy for cancer is not inferior to open surgery based on 5-year data from the COST Study Group trial. *Ann Surg*; 246: 655-62; discussion 662-4; 2007

- Fox I.J., Brooker L.G., Heseltine D.W., Essex H.E. and Wood E.H.: A tricarboyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Proc Staff Meet Mayo Clin*; S. 32-478, 484; 1957
- Fu K.I., Fujii T., Kato S., Sano Y., Koba I., Mera K., Saito H., Yoshino T., Sugito M., Yoshida S.: A new endoscopic tattooing technique for identifying the location of colonic lesions during laparoscopic surgery: a comparison with the conventional technique. *Endoscopy*; 33: 687-91; 2001
- Gathje J., Steuer R.R., Nicholes K.R.: Stability studies on indocyanine green dye. *J Appl Physiol.*; 29: 181-5; 1970
- Gebrauchsinformation ICG-PULSION®, PULSION Medical Systems AG, Feldkirchen, 2015
- George S., Primrose J., Talbot R., Smith J., Mullee M., Bailey D., du Boulay C., Jordan H., Wessex Colorectal Cancer Audit Working Group: Will Rogers revisited: prospective observational study of survival of 3592 patients with colorectal cancer according to number of nodes examined by pathologists. *Br J Cancer*; 95: 841-7; 2006
- Germer, C.T.: Laparoskopische onkologische Chirurgie des unteren Gastrointestinaltraktes. Die Evidenzlage, in: *Der Chirurg Juli 2014-Band 85, Heft 7, S. 568-569*, Springer-Verlag Heidelberg; 2014
- Gianom D., Hollinger A., Wirth H.P.: Intestinal perforation after preoperative colonic tattooing with India ink. *Swiss Surg*; 9: 307-10; 2003
- Goligher, J.C., Incidence and pathology of carcinoma of the colon and rectum, in *Surgery of the anus, rectum and colon. 1984*, Ballière Tindall: London; S. 44; 1984
- Gorgun I.E., Aytac E., Manilich E., Church J.M., Remzi F.H.: Intraoperative colonoscopy does not worsen the outcomes of laparoscopic colorectal surgery: a case-matched study. *Surg Endosc*; 27: 3572-6; 2013
- Green B.L., Marshall H.C., Collinson F., Quirke P., Guillou P., Jayne D.G., Brown J.M.: Long-term follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of conventional versus laparoscopically assisted resection in colorectal cancer. *Br J Surg.*; 100: 75-82; 2013
- Gröne J.: Chirurgische Therapie des Kolonkarzinoms: Gibt es noch Fortschritte? *coloproctology*; 38: 299; 2016

- Gröpner J., 2. Kapitel: Grundlagen. In: Gröpner J.: Aufbau und Erprobung eines Messplatzes zur Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer von NIR-Farbstoffen. S. 10-11. Diplomica® Verlag GmbH, Berlin, 2012, Bachelorarbeit 2011
- Hackethal A., Hirschburger M., Eicker S.O., Mücke T., Lindner C., Buchweitz O.: Role of Indocyanine Green in Fluorescence Imaging with Near-Infrared Light to Identify Sentinel Lymph Nodes, Lymphatic Vessels and Pathways Prior to Surgery - A Critical Evaluation of Options; *Geburtshilfe Frauenheilkd*; 78: 54–62; 2018
- Hammond D.C., Lane F.R., Welk R.A., Madura M.J., Borreson D.K., Passinaut W.J.: Endoscopic tattooing of the colon: an experimental study. *Am Surg*; 55: 457-461; 1989
- Heald R.J., Husband E.M., Ryall R.D.: The mesorectum in rectal cancer surgery-the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg*; 69: 613-6; 1982
- Hohenberger W., Weber K., Matzel K., Papadopoulos T., Merkel S.: Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal Dis.*; 11: 354-64; Diskussion 364-5; 2009
- Holzman M.D. und Eubanks S.: Laparoscopic colectomy. Prospects and problems. *Gastrointest Endosc Clin N Am.*; 7: 525-39; 1997
- Ishizawa T., Bandai Y., Kokudo N.: Fluorescent cholangiography using indocyanine green for laparoscopic cholecystectomy: An initial experience. *Arch Surg*; 144: 381–382; 2009
- Je Y., Liu W., Giovannucci E.: Coffee consumption and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cancer*; 124: 1662-8; 2009
- Kaminski M.F., Regula J., Kraszewska E., Polkowski M., Wojciechowska U., Didkowska J., Zwierko M., Rupinski M., Nowacki M.P., Butruk E.: Quality indicators for colonoscopy and the risk of interval cancer. *N Engl J Med*; 362: 1795-803; 2010
- Kanemitsu Y., Hirai T., Komori K., Kato T.: Survival benefit of high ligation of the inferior mesenteric artery in sigmoid colon or rectal cancer surgery. *Br J Surg*; 93: 609-15; 2006
- Kawai K., Iida Y., Ishihara S., Yamaguchi H., Nozawa H., Hata K., Kiyomatsu T., Tanaka T., Nishikawa T., Yasuda K., Otani K., Murono K., Watanabe T.: Intraoperative colonoscopy in patients with colorectal cancer: Review of recent developments. *Digestive Endoscopy*; 28: 633; 2016

- Kethu S.R., Banerjee S., Desilets D., Diehl D.L., Farraye F.A., Kaul V., Kwon R.S., Mamula P., Pedrosa M.C., Rodriguez S.A., Wong Kee Song L.M., Tierney W.M.: Endoscopic tattooing. *Gastrointestinal Endoscopy*; 72: 681-685; 2010
- Keum B., Seo M., Park S.C., Choi H.S., Kim E.S., Jeon Y.T., Lee H.S., Chun H.J., Um S.H., Kim C.D., Ryu H.S., Kim J.: A novel marking technique with magnetic clip on laparoscopic colon tumor operation: a pilot study. *Gastrintest Endosc*; 1: 450; 2013
- Kim S.H., Milsom J.W., Church J.M., Ludwig K.A., Garcia-Ruiz A, Okuda J., Fazio V.W.: Perioperative tumor localization for laparoscopic colorectal surgery. *Surg Endosc*; 11: 1013-6; 1997
- Kuhry E., Schwenk W.F., Gaupset R., Romild U., Bonjer H.J.: Long-term results of laparoscopic colorectal cancer resection. *Cochrane Database Syst Rev*; 16: CD003432; 2008
- Lan Y.T., Lin J.K., Jiang J.K., Chang S.C., Liang W.Y., Yang S.H.: Significance of lymph node retrieval from the terminal ileum for patients with cecal and ascending colonic cancers. *Ann Surg Oncol*; 18: 146-52; 2011
- Larach S.W., Salomon M.C., Williamson P.R., Goldstein E. Laparoscopic assisted colectomy: experience during the learning curve. *Coloproctology*; 1: 38-41; 1993
- Lazorthes F., Voigt J.J., Roques J., Chiotasso P., Chevreau P.: Distal intramural spread of carcinoma of the rectum correlated with lymph nodal involvement. *Surg Gynecol Obstet*; 170: 45-8; 1990
- Le Voyer T.E., Sigurdson E.R., Hanlon A.L., Mayer R.J., Macdonald J.S., Catalano P.J., Haller D.G.: Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol*; 21: 2912-9; 2003
- Lee J.G., Low A.H., Leung J.W.: Randomized comparative study of indocyaninegreen and India ink for colonic tattooing: an animal survival study. *J Clin Gastroenterol*; 31: 233-6; 2000
- Lehman G.A., Maveety P.R., O'Connor K.W.: Mucosal clipping--utility and safety testing in the colon. *Gastrointest Endosc.*; 31: 273-6; 1985
- Liang Y., Li G., Chen P., Yu J.: Laparoscopic versus open colorectal resection for cancer: a meta-analysis of results of randomized controlled trials on recurrence. *Eur J Surg Oncol*; 34: 1217-24; 2008

- Lohsiriwat V., Sujarittanakarn S., Akaraviputh T., Lertakyamanee N., Lohsiriwat D., Kachinthorn U.: Colonoscopic perforation: A report from World Gastroenterology Organization endoscopy training center in Thailand. *World J Gastroenterol*; 14: 6722-5; 2008
- McArthur C.S., Roayaie S., Waye J.D.: Safety of preoperation endoscopic tattoo with india ink for identification of colonic lesions. *SurgEndosc*; 13:397-400; 1999
- Miettinen, O.S.: On the matched-pairs design in the case of all-or-none responses. *Biometrics*; 24: 339-352; 1986
- Milsom J.W., Böhm B., Hammerhofer K.A., Fazio V., Steiger E., Elson P.: A prospective, randomized trial comparing laparoscopic versus conventional techniques in colorectal cancer surgery: a preliminary report. *J Am Coll Surg*; 187: 46-54; 1998
- Miyashiro I., Miyoshi N., Hiratsuka M., Kishi K., Yamada T., Ohue M., Ohigashi H., Yano M., Ishikawa O., Imaoka S.: Detection of sentinel node in gastric cancer surgery by indocyanine green fluorescence imaging: comparison with infrared imaging. *Ann Surg Oncol.*; 15: 1640-3; 2008
- Miyoshi N., Ohue M., Noura S., Yano M., Sasaki Y, Kishi K., Yamada T., Miyashiro I., Ohigashi H., Iishi H., Ishikawa O., Imaoka S.: Surgical usefulness of indocyanine green as an alternative to India ink for endoscopic marking. *Surg Endosc*; 23: 347-51; 2009
- Nagata J., Fukunaga Y., Akiyoshi T., Konishi T., Fujimoto Y., Nagayama S., Yamamoto N., Ueno M.: Colonic Marking with Near-Infrared, Light-Emitting, Diode-Activated Indocyanine Green for Laparoscopic Colorectal Surgery. *Dis Colon Rectum*; 2016
- Nguyen M.H., Mori K.: Localization of a colonic lesion in the era of laparoscopic colectomy. *ANZ J Surg.*; 81(9):584-6; 2011
- Nguyen Q.T. und Tsien R.Y.: Fluorescence-guided surgery with live molecular navigation- a new cutting edge. *Nature reviews. Cancer*; 13: 653–662; 2013
- Ohdaira T., Konishi F., Nagai H., Kashiwagi H., Shito K., Togashi K., Kanazawa K.: Intraoperative localization of colorectal tumors in the early stages using a marking clip detector system. *Dis Colon Rectum*; 42: 1353-1355; 1999

- Ott P.: Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacology & toxicology*; 83: 1-48; 1998
- Owens S.L.: Indocyanine green angiography. *The British journal of ophthalmology*; 80: 263–266, 1996
- Ozawa Y., Murakami M., Watanabe M., Yoshizawa S., Goto S., Otsuka K., Aoki T.: Preoperative colonic cancer tattooing using the near-infrared fluorescence laparoscopic imaging system. *Asian J Endosc Surg*; 9: 340-343; 2016
- Panaro F., Casaccia M., Cavaliere D., Torelli P.: Laparoscopic colon resection with intraoperative polyp localisation with high resolution ultrasonography coupled with colour power Doppler. *Postgrad Med J.*; 79: 533-4; 2003
- Piscatelli N., Hyman N., Osler T.: Localizing colorectal cancer by colonoscopy. *Arch Surg*; 140: 932–935; 2005
- Pohl J.: Endoscopic Tattooing. *Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy*. 1. 355–356. 10.1016/S2212-0971(13)70155-9; 2013
- Ponsky J.L. und King J.F.: Endoscopic marking of colonic lesions. *Gastrointestinal Endoscopy*; 22: 42-43; 1975
- Pox C.P.: Kolorektales Karzinom. (German). *Gastroenterologie Up2date*; 14: 87; 2018
- Price N., Gottfried M.R., Clary E., Lawson D.C., Baillie J., Mergener K., Westcott C., Eubanks S., Pappas T.N.: Safety and efficacy of India ink and indocyanine green as colonic tattooing agents. *Gastrointest Endosc.*; 51: 438-42; 2000
- Rawla P., Sunkara T., Barsouk A.: Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterology Review/ Przegląd Gastroenterologiczny*: 14: 89-103; 2019
- Rayees N., Nasir S., Steve K.L., David S.K., Phillip G.H.: Colonic tattooing with India ink: benefits, risks, and alternatives. *Am Coll of Gastroenterol*; 91:1804–1808; 1996
- Reißfelder C., Kahlert C., Rahbari N., Weitz J.: Umgang mit Lebermetastasen beim kolorektalen Karzinom aus chirurgischer Sicht: (11): Artikel 02_1; 2015

- Rex D.K., Adler S.N., Aisenberg J., Burch W.C. Jr., Carretero C., Chowers Y., Fein S.A., Fern S.E., Fernandez-Urien Sainz I., Fich A., Gal E., Horlander J.C. Sr., Isaacs K.L., Kariv R., Lahat A., Leung W.K., Malik P.R., Morgan D., Papageorgiou N., Romeo D.P., Shah S.S., Waterman M.: Accuracy of capsule colonoscopy in detecting colorectal polyps in a screening population. *Gastroenterology*; 148: 948-957.e2; 2015
- RKI (Robert Koch-Institut) und die GEKID (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V.), Hrsg. Krebs in Deutschland für 2015/2016; Robert Koch-Institut; Berlin; 12. Aufl.; 2019
- Roenneberg C.J.: Die Indocyaningrün-Fluoreszenz-Angiographie-Evaluation einer neuen nicht-invasiven Methode zur Bestimmung der residualen Gewebepfusion bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit, Med. Diss. München; 2013
- Rubin R., Strayer D.S., Rubin E.: In: Rubin's pathology. Clinicopathologic foundations of medicine. Sixth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012
- Sakanoue Y., Nakao K., Shoji Y., Yanagi H., Kusunoki M., Utsunomiya J.: Intraoperative colonoscopy. *Surg Endosc.*; 7: 84-7; 1993
- Sauntry J.P. und Knudtson K.P.: A technique for marking the mucosa of the gastrointestinal tract after polypectomy. *Cancer*; 11: 607–610; 1958
- Schwenk W., Neudecker J., Haase O.: Evidenzlage der laparoskopischen Chirurgie beim Kolonkarzinom. In: *Der Chirurg*: Band 85, Heft 7, S. 570-577, Springer-Verlag Heidelberg; 2014
- Souma Y., Nakajima K., Takahashi T., Nishimura J., Fujiwara Y., Takiguchi S., Miyata H., Yamasaki M., Doki Y., Nishida T.: The role of intraoperative carbon dioxide insufflating upper gastrointestinal endoscopy during laparoscopic surgery. *Surg Endosc.*; 23: 2279-85; 2009
- Sun C.L., Yuan J.M., Koh W.P., Yu M.C.: Green tea, black tea and colorectal cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Carcinogenesis*; 27: 1301-9.; 2006
- Tagaya, N., Shimoda M., Kato M., Nakagawa A., Abe A., Iwasaki Y., Oishi H., Shirotani N., Kubota K.: Intraoperative exploration of biliary anatomy using fluorescence imaging of

indocyanine green in experimental and clinical cholecystectomies. *Hepatobiliary Pancreatic Surgery*; 17: 595-600; 2009

Tan, K.Y., et al., Distribution of the first metastatic lymph node in colon cancer and its clinical significance. *Colorectal Dis*; 12: 44-7; 2010

Toyota, S., H. Ohta, and S. Anazawa, Rationale for extent of lymph node dissection for right colon cancer. *Dis Colon Rectum*; 38: 705-11; 1995

Trakarnsanga A. und Akaraviputh T.: Endoscopic tattooing of colorectal lesions: Is it a risk-free procedure? *World J Gastrointest Endosc*; 3: 256-60; 2011

Vignati P., Welch J.P., Cohen J.L.: Endoscopic localization of colon cancers. *Surg Endosc*; 8: 1085–1087; 1994

Warnick P., Chopra S.S., Raubach M, Kneif S., Hünerbein M.: Intraoperative localization of occult colorectal tumors during laparoscopic surgery by magnetic ring markers-a pilot study. *Int J Colorectal Dis*; 28: 795-800; 2013

Watanabe M., Tsunoda A., Narita K., Kusano M., Miwa M.: Colonic tattooing using fluorescence imaging with light-emitting diode-activated indocyanine green: a feasibility study. *Surg Today*; 39: 214-8; 2009

West N.P., Anderin C., Smith K.J., Holm T., Quirke P.: European Extralevator Abdominoperineal Excision Study Group. Multicentre experience with extralevator abdominoperineal excision for low rectal cancer. *Br J Surg*; 97: 588-99; 2010

Wexner S.D., Cohen S.M., Ulrich A., Reissman P.: Laparoscopic colorectal surgery—are we being honest with our patients? *Dis Colon Rectum*; 38: 723–727; 1995

Wittekind C. und Meyer H.-J.: TNM: Klassifikation Maligner Tumoren, International Union against Cancer, 7. Auflage; Taschenbuch Onkologie 2014, Kapitel: Tumoren des Verdauungstraktes; S. 61-104; Wiley-VCH Verlag, GmbH&Co.KGaA, Weinheim; 2010

Yano H., Okada K., Monden T.: Adhesion ileus caused by tattoo-marking unusual complication after laparoscopic for early colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*; 46:987; 2003

Yap R., Ianno D., Burgess A.: Colonoscopic localization accuracy for colorectal resections in the laparoscopic era. *Am J Surg*; 212: 258-63; 2016

Yeung J.M., Maxwell-Armstrong C., Acheson A.G.: Colonic tattooing in laparoscopic surgery—making the mark? *Colorectal Dis*; 11: 527-30; 2009

Zafar A., Mustafa M., Chapman M.: Colorectal polyps: when should we tattoo? *Surgical Endoscopy*; 26: 3264; 2012

Zaheer S., Pemberton J.H., Farouk R., Dozois R.R., Wolff B.G., Ilstrup D.: Surgical treatment of adenocarcinoma of the rectum. *Ann Surg*; 227: 800-11. 1998

Zhang J., Cheng Z., Ma Y., He C., Lu Y., Zhao Y., Chang X., Zhang Y., Bai Y., Cheng N.: Effectiveness of Screening Modalities in Colorectal Cancer: A Network Meta-Analysis. *Clin Colorectal Cancer*; 16:252-263; 2017

6.1 Internetquellen:

Gelbe Liste: https://www.gelbe-liste.de/produkte/icg-pulsion-5-mg-ml-nach-rekonstitution-pulver-zur-herstellung-einer-injektionsloesung-50mg_496555/fachinformation [abgerufen am: 10.04.2020]

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 2.1, 2019, AWMF Registrierungsnummer: 021/007OL, <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/kolorektales-karzinom/> [abgerufen am: 10.04.2020]

ROTE LISTE 2020, Arzneimittelverzeichnis Für Deutschland (Einschließlich EU-Zulassungen und bestimmter Medizinprodukte); <https://www.rote-liste.de/suche/stoff/060965/Indocyaningr%C3%BCn> [abgerufen am: 09.04.2020]

7 Anhang

7.1 Studienunterlagen

Abbildung 7-1 Erfassungsbogen

UK SH		Erfassungsbogen: LIFT				
Laparoskopische Lokalisation maligner kolorektaler Tumore mittels ICG- Fluoreszenzbildgebung						
Patientendaten						
Patienten-Initialen:		Studiennummer: LIFT				
Geb.:		Geschlecht:				
Größe:		Gewicht:				
Endoskopische ICG-Markierung:						
Datum der Markierung:		Uhrzeit der Markierung:				
Tumorlokalisierung Kolon:		rechts	Transversum	links	Sigma	Rektum
aboraler Tumorabstand:						cm
Endoskopiker:						
Eindeutige Lokalisation und Markierung möglich?: ja nein						
Verwendetes ICG:		ml	Tage vor OP:		0 1 2 3 mehr	
Operation						
Uhrzeit der Bildgebung:		Uhrzeit der Markierung:				
OP-Tag:		Operateur:				
OP-Verfahren:						
Part 1: visuell-taktile Tumorlokalisierung						
Laparoskopische Lokalisation und Clipmarkierung möglich?				Ja	Nein	
Wenn nein, Begründung:						
Schweregrad der Lokalisation?		1= Tumorlokalisierung nicht möglich				
		2= Tumorlokalisierung schwierig				
		3= Tumorlokalisierung leicht				
Part 2: infrarotunterstützte ICG-Fluoreszenzbildgebung zur Tumorlokalisierung						
Laparoskopische Lokalisation und Clipmarkierung möglich?				Ja	Nein	
Wenn nein, Begründung:						
Schweregrad der Lokalisation?		1= Tumorlokalisierung nicht möglich				
		2= Tumorlokalisierung schwierig				
		3= Tumorlokalisierung leicht				
Part 3: Vermessung am Resektionspräparat						
Abstand Tumorrand zu Clip Part 1:						cm
Abstand Tumorrand zu Clip Part 2:						cm
Intraoperative Koloskopie zur Festlegung des Resektionsrandes?				ja	nein	
Komplikationen durch Endoskopie/ICG/Laparoskopie:						
Postoperatives Tumorstadium (TNM):						

Abbildung 7-2 Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie

	UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein
	<small> Campus Lübeck Klinik für Chirurgie – Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Bruch Ansprechpartner: Frau Gebhardt Tel: 0451 / 500-2000 Fax: 0451 / 500-2069 → E-Mail: bruch@medinf.mu-luebeck.de Internet: Fehler! Hyperlink-Referenz ungültig. </small>

Einwilligungserklärung des Patienten zur Teilnahme an der Studie:
Akten-Exemplar

**Laparoskopische Lokalisation maligner kolorektaler Tumore mittels
ICG- Fluoreszenzbildgebung (LIFT)**

Name, Vorname Geburtsdatum

Mit meiner umseitigen Unterschrift bestätige ich folgendes:

Ich wurde vollständig über das Wesen und die Bedeutung dieser Studie aufgeklärt.

- Ich habe die schriftliche Patienteninformation zur oben genannten Studie erhalten, gelesen und verstanden. Ich wurde ausführlich – mündlich und schriftlich – über das Ziel der Teilnahme, meine Rechte und die Freiwilligkeit der Teilnahme aufgeklärt.
- Ich hatte die Möglichkeit, alle meine Fragen zu stellen. Diese wurden zufriedenstellend und vollständig beantwortet.
- Ich erkläre hiermit meine Teilnahme an der oben genannten Studie.
- Ich wurde darauf hingewiesen, dass meine Teilnahme freiwillig ist und dass ich das Recht habe, diese jederzeit ohne Angabe von Gründen zu beenden, ohne dass mir dadurch Nachteile entstehen.
- Ich weiß, dass die Art und Weise des operativen Vorgehens dem etablierten Standard entsprechen und auch im Rahmen der Studie hiervon nicht abgewichen wird.
- Ich bin damit einverstanden, dass meine Patientendaten in pseudonymisierter Form in der beschriebenen Form verwendet und publiziert werden. Hiermit möchte ich zur zukünftig verbesserten Durchführung laparoskopischer Kolonresektionen beitragen.
- Ich erkläre mich einverstanden, durch das Studienpersonal auch zu einem späteren Zeitpunkt telefonisch oder brieflich kontaktiert zu werden.

Abbildung 7-3 Datenschutzrechtliche Einwilligung in die Studie

Datenschutzrechtliche Einwilligungserklärung
 Ich wurde über meine Datenschutzrechte informiert. Mit der Erhebung, Verarbeitung und Speicherung meiner Daten in pseudonymisierter Form sowie der Übermittlung im Rahmen der oben genannten Studie bin ich einverstanden.

Lübeck, den _____

 Unterschrift der/s Patientin/en

Lübeck, den _____

 Unterschrift des/der Aufklärenden, Telefon

Projektkoordination:
Prof. Dr. med. H.-P. Bruch
 Direktor, Klinik für Chirurgie
 Tel.: 0451 -500-2001

Weitere Ansprechpartner:
Dr. med. H. Esnaashari
 Assistenzarzt
 Tel.: 0451-500-3622

Dr. Thomas Jungbluth
 Oberarzt
 Tel.: 0451-500-6348

Universitätsklinikum
 Schleswig-Holstein
 Anstalt des
 öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:
 Prof. Dr. Jens Scholz
 Dipl.-Verw. Julia Kähning
 Christa Meyer

Seite 1 UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein

Abbildung 7-4 Informationsmaterial für die Studienteilnehmer Teil 1

	UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein
	Campus Lübeck Klinik für Chirurgie – Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Bruch Ansprechpartner: Frau Gebhardt
	→ Tel: 0451 / 500-2001 Fax: 0451 / 500-2069

Patienteninformation zur Teilnahme an der Studie:

**Laparoskopische Lokalisation maligner kolorektaler Tumore mittels
ICG- Fluoreszenzbildgebung (LIFT)**

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

bitte lesen Sie diese Patienteninformation sorgfältig durch. Ihr Arzt wird mit Ihnen auch direkt über diese Studie sprechen. Bitte fragen Sie Ihren Arzt, wenn Sie etwas nicht verstehen oder wenn Sie zusätzlich etwas wissen möchten. Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, wenden Sie sich bitte an den aufklärenden Arzt und/oder die Studienleitung.

Sie unterziehen sich wegen eines Dickdarmtumors einer Darmentfernung in Bauchspiegelungstechnik. Um den Tumor in der Operation leichter und sicherer erkennen zu können, planen wir vor der Operation die endoskopische Markierung des Tumors mit dem Farbstoff Indozyaninrot (ICG). Während der laparoskopischen Operation soll die Markierung dann durch Nah -Infrarotlicht zur Fluoreszenz angeregt werden. Dieses soll die genaue Lokalisation für den Operateur erleichtern. Die Tumorlokalisierung wird ohne und mit der Fluoreszenzbildgebung durch einen Clip (wird mit dem Dickdarmresektat wieder entfernt) markiert. Nach der Dickdarmresektion soll die Genauigkeit der Tumorlokalisierung (Abstand Clips zu Tumor) am Präparat vermessen werden. Unserer Ansicht nach können in Zukunft bei schlecht auffindbaren Tumoren durch die Anwendung der ICG - Fluoreszenzbildgebung Darmspiegelungen während der Operation mit all ihren Nachteilen teilweise vermieden werden.

Die ICG -Fluoreszenzbildgebung ist ein Verfahren, welches aus anderen Bereichen der Medizin schon lange bekannt ist. Dabei wird bei anderen Anwendungsgebieten dem Patienten ein Kontrastmittel (ICG -Pulsion) in die Venen eingegeben. Bei abgedunkeltem Raum kann das Kontrastmittel im Blut durch Nahinfrarotlicht zur Fluoreszenz angeregt werden. Mit einer Digitalkamera kann das „leuchtende Blut“ beim Durchdringen des Gewebes gefilmt werden.

Es existieren Gegenanzeigen, Wechsel- und Nebenwirkungen bei der Verwendung des Kontrastmittels, die im Folgenden aufgeführt sind:

Gegenanzeigen: Überempfindlichkeit gegenüber ICG, Natriumjodid, Jod, Schilddrüsenüberfunktion oder Autonomie. Besondere Vorsicht: Einnahme von Betablockern, geplante Schilddrüsendiagnostik, -therapie, Schwangerschaft, Stillzeit. Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten: krampfhemmende Mittel, Cyclopropan, Bisulfit -Verbindungen, Haloperidol, Heroin, Meperidin, Metamizol, Methadon, Morphin, Nitrofurantoin, Opiumkaloide, Phenorbital, Probenecid, Rifamycin, Natriumbisulfit. Nebenwirkungen: seltener als 1:10000 allergische Reaktionen, Krampf der Herzkranzgefäße.

Seite 1 UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein

Abbildung 7-5 Informationsmaterial für die Studienteilnehmer Teil 2

Falls Sie Ihre Einwilligung zu dieser Studie erteilen, wird Ihnen vor der Operation der Farbstoff ICG endoskopisch in den Bereich des Tumors am Darm appliziert. Während der Operation wird diese Markierung durch das Nah-Infrarotbildgebungssystem zum Fluoreszieren gebracht und der Tumor mit Clips markiert.

Das Video und die Daten der Messungen werden gespeichert und aufbewahrt. Die eingriffsspezifischen Daten vor, während und nach der Operation werden ebenfalls erfasst und sowohl in den Studienunterlagen als auch auf einem elektronischen Datenträger gespeichert und ausgewertet. Ihre Daten werden in ausschließlich **pseudonymisierter** Form (das bedeutet ohne direkten Bezug zu Ihrem Namen) auf den Datenträger gebracht.

Ihre Teilnahme ist freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen die Teilnahme beenden, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile im Hinblick auf die Behandlung oder Ihr Verhältnis zu Ihrer behandelnden Ärztin bzw. Arzt entstehen. Mit dem Widerruf bzw. Zurückziehen der Einwilligungserklärung werden Ihre bisherigen Daten unwiderruflich anonymisiert, d.h., Sie können nicht mehr anhand der Daten identifiziert werden.

Wir möchten Sie um Ihre Zustimmung bitten.

Hinweise zum Datenschutz:

Im Rahmen dieser Studie werden personenbezogene Behandlungsdaten von Ihnen erhoben. Die Datenerhebung erfolgt zum Zweck der oben genannten Untersuchungen. Erhoben werden Geburtsdatum, Adresse, medizinische Befunde, Behandlungsarten und verordnete Medikamente. Ihre Daten werden in pseudonymisierter Form, d.h. ohne direkten Bezug zu Ihrem Namen, elektronisch gespeichert und ausgewertet. Die Bestimmungen des Datenschutzes werden eingehalten. Zugriff auf Ihre Daten haben nur wissenschaftliche Mitarbeiter der Studiendurchführung. Diese Personen sind zur Verschwiegenheit verpflichtet. Die Daten sind vor fremdem Zugriff geschützt. Eine Weiterleitung dieser Daten an Dritte erfolgt nicht. Nur Ihr behandelnder Arzt kann die medizinischen Daten Ihrer Person zuordnen. Ihr Name wird zu keiner Zeit öffentlich gemacht.

Mit dem Unterzeichnen der Einverständniserklärung geben Sie Ihre Einwilligung zur Erhebung und Speicherung Ihrer Daten in pseudonymisierter Form.

Abbildung 7-6 Informationsblatt über die Gabe von Indocyaningrün

Aufklärung über die Gabe von ICG

ICG (Indocyaningrün) ist ein in der Medizin lange bekannter Farbstoff. In der Augenheilkunde kommt er zur Diagnostik im klinischen Alltag zum Einsatz, wird aber auch in anderen medizinischen Gebieten eingesetzt (Leberfunktionsdiagnostik, plastische Chirurgie, Bauchchirurgie).

Mittels des Farbstoffes und Laser-Licht lässt sich die Durchblutung eines Gewebes messen.

Ziel des Einsatzes ist es, die Möglichkeiten der Durchblutungsmessung an neuen klinischen Fragestellungen zu erproben.

Gegenanzeigen:

- Überempfindlichkeit gegenüber ICG, Natriumjodid, Jod
- Schilddrüsenüberfunktion oder Autonomie

Besondere Vorsicht:

- Einnahme von Betablockern
- Nierenfunktionseinschränkung
- geplanter Schilddrüsendiagnostik/Therapie
- Schwangerschaft/Stillzeit

Wechselwirkung mit anderen Medikamenten:

Krampfhemmende Mittel, Cyclopropan, Bisulfit-Verbindungen, Haloperidol, Heroin, Meperidin, Metamizol, Methadon, Morphin, Nitrofurantoin, Opiumalkaloide, Phenobarbital, Probenecid, Rifamycin, Natriumbisulfit

Nebenwirkung:

Seltener als 1:10000 => allergische Reaktionen, Krampf der Herzkranzgefäße.

Ich bin durch den unterzeichnenden Arzt über den Einsatz und die möglichen Nebenwirkungen des ICG aufgeklärt worden und bin mit der Gabe einverstanden.

Arzt
HL, den
Patient
HL, den

Abbildung 7-7 Kopie Ethikvotum vom 12.01.2010

Universität zu Lübeck - Ratzeburger Allee 1-0 - 2-538 Lübeck

Herrn
Dr. med. Esnaashari
Klinik für Chirurgie

im Hause

nachrichtlich:
Herrn Prof. Dr. Bruch
Direktor der Klinik für Chirurgie

 *in fides et in caritate*
Universität zu Lübeck
Medizinische Fakultät

Ethik-Kommission
Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Raspe
Universität zu Lübeck
Stellv. Vorsitzende:
Frau Prof. Dr. med. M. Schrader
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann
Tel.: +49 451 500 4639
Fax: +49 451 500 3026
janine.erdmann@medizin.uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 09-177
Datum 13. Januar 2010

Sitzung der Ethik-Kommission am 10. November 2009 sowie am 12. Januar 2010
Antragsteller: Herr Dr. Esnaashari / Herr Prof. Bruch
Titel: Laparoskopische Lokalisation maligner kolorektaler Tumore mittels ICG-Fluoreszenzbildgebung

Sehr geehrter Herr Dr. Esnaashari,

der Antrag wurde unter berufsethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und berufsrechtlichen Gesichtspunkten geprüft. Die Ethik-Kommission hat keine Bedenken.

Erläuterung: Die Ethik-Kommission vertritt die Auffassung, dass der Farbstoff ICG-Pulsion als Bestandteil eines Medizinproduktes (hier Visera Pro) zum Einsatz kommt. Die Anwendung des Medizinproduktes im Rahmen laparoskopischer Kolonresektionen zur Tumorkolonlokalisierung erfolgt innerhalb der in der Konformitätserklärung beschriebenen Zweckbestimmung.

Da der Einsatz des Kontrastmittels ICG-Pulsion allein studienbedingt erfolgt, empfiehlt die Kommission den Abschluss einer Probandenversicherung.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden. Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muss die Kommission umgehend benachrichtigt werden. Nach Abschluss des Projektes bitte ich um Übersendung eines knappen Schlussberichtes (unter Angabe unseres Aktenzeichens), aus dem der Erfolg/Misserfolg der Studie sowie Angaben darüber, ob die Studie abgebrochen oder geändert bzw. ob Regressansprüche geltend gemacht wurden, ersichtlich sind. Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Studie und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichem Gruß bin ich
Ihr


Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Raspe
Vorsitzender

anwesende Kommissionsmitglieder:

<input checked="" type="checkbox"/> Prof. Dr. Dr. H.-H. Raspe (Sozialmedizin, Vorsitzender der EK)	<input checked="" type="checkbox"/> Frau H. Möller (Pflege) Dr. Kaiser (Kinderchirurgie)	<input checked="" type="checkbox"/> Herr Prof. Dr. Mönig (Medizinische Klinik I)
<input checked="" type="checkbox"/> Prof. Dr. Schweiger (Psychiatrie)	<input checked="" type="checkbox"/> Herr Dr. Fieber (Richter am Amtsgericht Ahrensburg)	<input checked="" type="checkbox"/> Frau Prof. Dr. M. Schrader (Plastische Chirurgie, Stellv. Vors.)
<input checked="" type="checkbox"/> Prof. Dr. Dendorfer (Pharmakologie)	<input checked="" type="checkbox"/> Prof. Schwinger (Humangenetik)	<input checked="" type="checkbox"/> Herr PD Lauten (Pädiatrie)
<input checked="" type="checkbox"/> Frau Prof. E. Stubbe (Theologie)		<input checked="" type="checkbox"/> Herr D. Stojan (Präsident des Amtsgerichtes Lübeck)
<input checked="" type="checkbox"/> Prof. Dr. Borck (Medizin- und Wissenschaftsgeschichte)		

7.2 Publikationen:

Esnaashari H., Jungbluth T., Zieske J., Laubert T., Jürgens T., Schorcht A., Kraus M., Roblick U.J., Bruch H.P.: Infrarot-gestützte intraoperative laparoskopische Lokalisation kolorektaler Tumore. Kongressbeitrag: Vortrag und Posterpreis, Viszeralmedizinkongress, Leipzig; 2011

Abbildung 7-8 Kongressbeitrag, Viszeralmedizinkongress 2011, Poster



UKSH

Infrarotgestützte, intraoperative laparoskopische Lokalisation Kolorektaler Tumore

Esnaashari H.1, Jungbluth T.2, Zieske J.1, Laubert T.1, Jürgens T.3, Schorcht A.1, Kraus M.1, Roblick U.J.1, Bruch H.P.1

1 UKSH, Campus Lübeck, Klinik für Chirurgie, 2 Asklepios Klinik Bad Oldesee, Klinik für Chirurgie, 3 Olympus Surgical Technologies Europe, Hamburg

UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein
Campus Lübeck
Klinik für Chirurgie



Einführung:

Die Höhenlokalisierung kolorektaler Tumore im Rahmen minimalinvasiver Eingriffe ist aufgrund der stark reduzierten taktilen Möglichkeiten deutlich erschwert. Daher ist in vielen Fällen ein Intraoperatives Rendez-Vous-Verfahren notwendig, das mit hohem Aufwand verbunden ist. In der vorliegenden Arbeit wurde bei 20 Patienten-Innen mit nachgewiesenem kolorektalem Karzinom oder Adenom und geplantem MIC-Resektionsverfahren eine präoperative, submuköse Tumormarkierung mittels des Diagnostikums Indozyaninrot (ICG-Pulsion, Pulsion®) vorgenommen. Zur Intraoperativen Tumorsvisualisierung verwendeten wir ViseraPro®, ein Nahinfrarot-Videosystem zur Intra(IR)-Bildgebung in der Minimal-Invasiven Chirurgie, das auf Fluoreszenz des ICG basiert (Abbildung 1). Wir untersuchten, ob die Intraoperative Tumorsvisualisierung Vorteile im Vergleich zur konventionellen Methode zur Tumorerkenntnis bietet.

Material und Methode:

Die Markierung wurde endoskopisch mit jeweils zweimal 1mg ICG - entsprechend 0,2ml - ein bis fünf Tage präoperativ vorgenommen (abbildungen 2,3). Im Rahmen der Markierung traten keine Komplikationen auf. Entsprechend des Studiendesigns versuchte der Operateur Intraoperativ zunächst den aboralen Rand des Tumors unter Weißlicht und mit Hilfe von laparoskopischem Tastinstrumentarium zu lokalisieren und mit einem Clip zu markieren. Im nächsten Schritt wurde gleiche Prozedere unter Einsatz des IR-Systems vorgenommen. Nach erfolgter Resektion wurde das Präparat aufgeschnitten und der Abstand zwischen den jeweiligen Clips und dem aboralen Tumorrand mit einem Lineal gemessen und dokumentiert. Weiterhin wurden die Operateure bezüglich des Schwierigkeitsgrads der Tumorklassifikation befragt.

Ergebnisse:

Bei einem Patienten wurde vor der Tumordetektion konvertiert. Dieser Patient wurde aus dem Kollektiv ausgeschlossen. In lediglich 7 von 19 Fällen war eine exakte Tumordetektion (Abstand < 2cm vom aboralen Tumorrand) visuell-taktil möglich. Mittels IR-Bildgebung gelang in allen Fällen die sichere Tumordetektion. Ein Vierfelder-Test kann daher nicht durchgeführt werden. Der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test belegt, dass die IR-Bildgebung der visuell-taktilen Methode statistisch hochsignifikant überlegen ist (Tabelle 1; $p < 0,001$). Anhand der Befragung der Operateure lässt sich die eindeutige Tendenz ablesen, dass durch die IR-Bildgebung auch in Tumore leicht erkannt werden, die visuell-taktil nur schwer oder überhaupt nicht detektiert werden. Der Freeman-Halton-Extension des Fisher-Exakt-Wahrscheinlichkeits-Test ist jedoch statistisch nicht signifikant ($pA = 0,42$, $pB = 0,43$). Das ist am ehesten auf die niedrige Fallzahl zurück zu führen.

Zusammenfassung:

Die endoskopische ICG-Tumormarkierung und intraoperative IR-Tumorbildgebung sind sichere und leicht durchzuführende Verfahren. Dadurch können wichtige Intraoperative Ressourcen gespart werden. Da der Farbstoff nur unter IR-Licht sichtbar ist, wird er im Gegensatz zu den herkömmlichen Methoden der Markierung wie Tusche oder Kohle im Rahmen der Präparation nicht als störend empfunden. Demgegenüber stehen die höheren Kosten für den Farbstoff. Es sind weiterführende Studien mit größerer Fallzahl und im direkten Vergleich zu den herkömmlichen Markierungsverfahren notwendig, um eine sichere Aussage treffen zu können, ob die IR-Tumordetektion den anderen Verfahren überlegen ist.

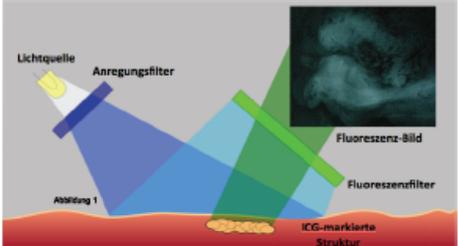


Abbildung 1

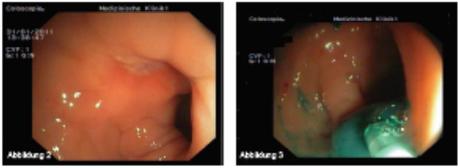


Abbildung 2 **Abbildung 3**

	Visuell-taktil			IR-Bildgebung		
	Abstand	Häufigkeit	Prozent	Abstand	Häufigkeit	Prozent
Gültig	0cm	6	30,0	0cm	19	75,0
	1cm	0	-	1cm	2	10,0
	2cm	1	5,0	2cm	2	10,0
	3cm	1	5,0	3cm	-	-
	7cm	1	5,0	7cm	-	-
	8cm	1	5,0	8cm	-	-
Gesamt		11	55,0	Gesamt	20	100,0
	Fehlend	System	8	45,0	System	-

Visuell-taktil	IR-Bildgebung		
	Leicht (n=17)	Schwer (n=2)	Nicht erkennbar (n=0)
Leicht (n=7)	7	0	0
Schwer (n=3)	2	1	0
Nicht erkennbar (n=9)	8	1	0

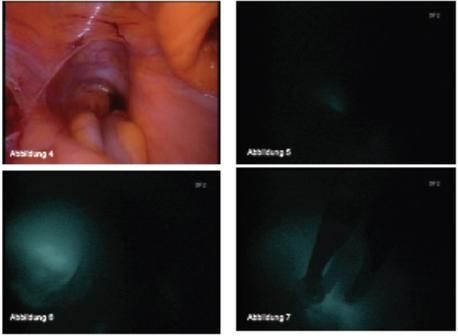


Abbildung 4 **Abbildung 5**



Abbildung 6 **Abbildung 7**

8 Danksagungen

Zuerst danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Tilman Laubert, der mich besonders in der Fertigstellung dieser Dissertationsschrift sehr unterstützte und mich mit konstruktiver Kritik und beeindruckender Zuverlässigkeit voranbrachte.

Ebenso danken möchte ich Herrn Dr. med. Hamed Esnaashari, der mich als langjähriger Betreuer auf vielseitige Weise unterstützte, diese Studie überhaupt erst ermöglichte und in vielerlei Hinsicht Mentor für mich war. Gemeinsam mit Dr. med. Thomas Jungbluth, dem ich außerdem danken möchte, entwickelte er das Studiendesign und führte bereits vorab die notwendigen Regularien, statistischen Beratungen und Anträge durch. Ohne sie wären viele Schritte nicht möglich gewesen.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. med. Hans-Peter Bruch und dessen Nachfolger Prof. Dr. med. Tobias Keck, die es mir ermöglichten innerhalb der Klinik für Chirurgie zu promovieren.

Frau Dr. Benecke gilt mein Dank in der Erarbeitung einer sinnvollen Verschriftlichung, sowie der in mich investierten Zeit und ihrer voranbringenden Kritik.

In der Auswertung der Daten, sowie der adäquaten Dokumentation wurde die Studienleitung durch die wissenschaftlichen Mitarbeiter der Uniklinik zu Lübeck und insbesondere durch Frau Claudia Killaitis (Dokumentation und Statistik, Klinik für Chirurgie, UKSH Lübeck) unterstützt, denen ich hiermit ebenfalls danke.

Den an dieser Untersuchung mitwirkenden Patienten danke ich für die Teilnahme und die dadurch gewonnenen Erkenntnisse. Ebenso Dank gilt den an dieser Studie partizipierenden ärztlichen Kollegen, die sowohl die endoskopischen Markierungen als auch die intraoperativen Untersuchungen durchführten.

Von Herzen danke ich meiner Familie, besonders meinen Eltern und meiner Schwester für jegliche Unterstützung und Ermutigung.

Ausdrücklich und ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann und meiner Tochter. Dank eurer Unterstützung, Liebe und eures steten Rückhalts, sowie der vielen Zeit, die ihr ermöglicht habt, konnte diese Dissertationsschrift erst fertig gestellt werden.

9 Lebenslauf

Josefin Kolbe, geb. Zieske

geboren am 25.09.1985 in Wriezen



Hochschulausbildung

06/2013	Approbation als Ärztin
04-06/2013	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2009	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/2006-06/2013	Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck

Berufliche Erfahrungen

seit 05/2018	Assistenzärztin in der Weiterbildung zur Fachärztin für Allgemein- und Viszeralchirurgie in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Onkologische Chirurgie, Helios Klinikum Berlin-Buch
01/2018	Zusatzbezeichnung Notfallmedizin
08/2013-04/2018	Assistenzärztin in der Weiterbildung zur Fachärztin für Allgemein- und Viszeralchirurgie in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Sana Klinik OH, Eutin
10/2010-02/2013	Studentischer Dienst der Klinik für Chirurgie, UKSH Lübeck
06/2011-09/2011	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Projekt „Lübecker Toolbox“

Dissertation

seit 03/2010	Beginn der Arbeit an der vorliegenden Dissertationsschrift in der Klinik für Chirurgie, UKSH, Lübeck
Doktorvater	03/2010- 04/2013: Dr. med. Thomas Jungbluth seit 04/2013: Prof. Dr. med. Tilman Laubert
Betreuung	03/2010-02/2017: Dr. med. Hamed Esnaashari 02/2017-06/2019: Dr. med. Claudia Benecke