

Aus der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie  
Bereich für Oralmedizin, zahnärztliche Röntgenologie und – Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

OralCDx<sup>®</sup> Computer-assistierte Analyse der Bürstenbiopsie -  
Klinischer Verlauf von Patienten mit Nachweis von positiven/atypischen  
epithelialen Zellen

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jana Volmajer

aus Bremen

Gutachter: 1. Prof. Dr. A. M. Schmidt-Westhausen  
2. Prof. Dr. J. Jackowski  
3. Priv.-Doz. Dr. M. Bornstein

Datum der Promotion: 24.02.2012

---

1. Einleitung.....	3
2. Literaturübersicht.....	5
2.1. Prävention.....	5
2.2. Anatomie der Mundschleimhaut.....	6
2.3. Maligne Tumoren der Mundhöhle.....	8
2.4. WHO-Dysplasie-System.....	10
2.5. Intraepitheliale Plattenepithelneoplasie (WHO 2005).....	12
2.6. Präkanzerose und präkanzeröse Kondition.....	12
2.7. Leukoplakie.....	13
2.8. Diagnostische Hilfsmittel.....	15
2.8.1. Klinische Inspektion und Palpation.....	15
2.8.2. Toluidinblau.....	15
2.8.3. 5-Aminolävulinsäure (5-ALA).....	15
2.8.4. Autofluoreszenz.....	16
2.8.5. Biopsie.....	17
2.8.6. Exfoliativzytologie von Abstrichpräparaten.....	18
2.9. Oral CDx® - Die Computer-assistierte Auswertung.....	20
2.10. Die Sensitivität und Spezifität der Computer-assistierten Bildzytometrie.....	23
3. Herleitung einer Aufgabenstellung.....	28
4. Patienten und Methoden.....	29
4.1. Patienten.....	29
4.2. Patienten-Basisdaten.....	29
5. Ergebnisse.....	31
5.1. Ergebnisse der Bürstenbiopsien.....	31
5.2. Ergebnisse der Biopsien / Gewebeproben.....	38
6. Diskussion.....	40
7. Schlussfolgerung.....	54
8. Zusammenfassung.....	56
8.1. Zusammenfassung.....	56
8.2. Summary.....	57
9. Literaturverzeichnis.....	59
10. Anhang.....	70
11. Danksagung.....	76
12. Curriculum Vitae.....	77
13. Eidesstattliche Erklärung.....	77

## 1. Einleitung

Das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle zählt zu den zehn häufigsten Karzinomen der Welt beim Menschen und macht drei bis fünf Prozent aller malignen Entartungen in Europa aus [Weir et al. 1987]. Im Jahr 2006 wurden in Deutschland 7930 neue Karzinomerkrankungen des Mundes und des Rachens bei Männern und 2930 bei Frauen entdeckt [Robert Koch Institut 2010]. Für das Jahr 2006 betrug die altersstandardisierte Inzidenz (Fälle je 100.000 Einwohner und Jahr) nach Europastandard dieser Karzinome in Deutschland bei Männern 16,4 und bei Frauen 5,2 [Robert Koch Institut 2010]. Die altersstandardisierte Inzidenz in Deutschland für das orale Plattenepithelkarzinom betrug 2002 bei Männern 11,1 und bei Frauen 2,8 [Bertz et al. 2004].

Selbst mit der Weiterentwicklung moderner chirurgischer Verfahren sowie der Anwendung von Strahlen- und Chemotherapie, konnte die Fünfjahresüberlebensrate nicht deutlich verbessert werden, so dass immer noch annähernd 50% der erkrankten Patienten in diesem Zeitraum versterben [Howald et al. 1996, Epstein et al. 2002]. Es erkranken auch Patienten, ohne dass die klassischen Risikofaktoren Rauchen und Alkohol in der Anamnese erhoben werden können [Llewellyn et al. 2003]. Das orale Plattenepithelkarzinom ist bei frühzeitigem Erkennen und rascher Behandlung heilbar, wobei jedoch eine Therapieverzögerung von mehr als vier Wochen eine signifikant schlechtere Überlebensrate bedingt [Kowalski et al. 2001, Remmerbach 2010]. Es wird ebenfalls beschrieben, dass selbst nach chirurgischer Exzision eine weitere maligne Transformation auch nach mehreren Jahren möglich ist [Mehanna et al. 2009].

Orale Plattenepithelkarzinome können grundsätzlich auch in der klinisch gesund erscheinenden Mundschleimhaut entstehen. Allerdings bildet sich die große Mehrzahl auf dem Boden langfristig bestehender und klinisch erkennbarer Präkanzerosen [Forastiere et al. 2001]. Für eine histologisch diagnostizierte Dysplasie liegt die maligne Transformationsrate bei 12,1% [Mehanna et al. 2009].

Gerade die demographische Veränderung unserer Bevölkerung sowie veränderte Ess- und Trinkgewohnheiten, neue internistische Krankheitsbilder und zunehmende Materialunverträglichkeiten erfordern vom Zahnarzt einen besonderen Kenntnisstand der oralen Medizin [Grosse 2009]. Die deutsche Krebshilfe fordert deshalb, dass die systematische Fahndung nach einem Mundhöhlenkarzinom und seinen Vorläuferläsionen nicht allein auf einen bestimmten Personenkreis begrenzt bleiben

---

darf, sondern als integraler Bestandteil der zahnärztlichen Basisuntersuchung bei jedem Patienten routinemäßig erfolgen sollte [Driemel 2008].

Ziel dieser Studie war es daher, die in der Zahnmedizin relativ junge Methode der Bürstenbiopsie samt der adjuvanten Methode der Computer-assistierten Bildanalyse als minimal-invasive Form der Probeentnahme bei verdächtigen Läsionen der Mundschleimhaut in der klinischen Benutzung zu untersuchen.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Prävention

In Deutschland starben im Jahr 2009 insgesamt 216 128 Personen an einem Karzinom, davon 116 711 Männer und 99 417 Frauen. Damit war jeder vierte Todesfall auf eine Krebserkrankung zurückzuführen [Statistisches Bundesamt 2010]. Die Entstehung benigner und maligner Tumoren ist ein komplexer Mehrschrittprozess, der zum Teil Jahre dauert und der durch eine Häufung von Mutationen im Genom der betroffenen Zelle charakterisiert ist. Die Ergebnisse der Tumorforschung zeigen, dass sowohl chemische als auch physikalische und biologische Noxen sowie bestimmte Viren die Bildung von Tumoren auslösen können [Poremba et al. 1999].

Zum großen Teil bestimmen Faktoren unserer Umwelt ein Tumorwachstum: schädliche Belastung von Boden, Wasser und Luft; Lebensstil und Ernährung; soziale Umwelt und Arbeitsplatz. Der Lebensstil spielt hierbei eine besonders große Rolle, z.B. Tabakkonsum, Alkoholabusus, Ernährungsverhalten und Qualität der Nahrung [Reichart 2000]. Gerade diese Faktoren sind veränder- und beeinflussbar, wodurch ein großer Anteil der Karzinomerkrankungen durch vorbeugende Maßnahmen im Sinne einer primären Prävention vermeidbar wäre [Remmerbach 2005].

Prävention wird als Verhinderung von Erkrankungen oder Gesundheitsschäden definiert und wird oftmals mit der Präventivbehandlung gleichgestellt [Reuter 2004].

Dieser Begriff wird weiter unterteilt in primäre, sekundäre und tertiäre Prävention:

- Primäre Prävention: Ausschaltung von Faktoren, bevor sie wirksam werden können. Dadurch Verringerung der Inzidenz von Krankheiten.
- Sekundäre Prävention: Frühdiagnostik (z.B. durch Karzinomvorsorge - untersuchungen, Neugeborenenenscreening) und Behandlung möglichst bevor manifeste oder schwere Schäden auftreten. Eindämmung der Progredienz oder Chronifizierung.
- Tertiäre Prävention: Begrenzung der Schädigung auf ein Minimum und möglichst weitgehende Restitution und Rehabilitation. Verhinderung von Folgeschäden oder Rückfällen [Hurrelmann et al. 2007].

Bei den Kopf-Halstumoren ist besonders die Reduktion des Tabak- und Alkoholkonsums von immenser Bedeutung. Die Aufklärung über die Risiken des Rauchens sollten daher Bestandteil der zahnärztlichen Betreuung sein und besonders bei jugendlichen Patienten erfolgen [Reichart et al. 2000].

Die primäre Prävention schließt eine Tumorentstehung nicht vollständig aus. Unvermeidlich auftretende Karzinomkrankungen können jedoch mit Hilfe der sekundären Prävention früh erkannt und adäquat behandelt werden, womit ein tödlicher Verlauf wahrscheinlich vermieden werden kann [Remmerbach 2005].

Dazu gehören vor allem bevölkerungsbezogene Früherkennungsmaßnahmen. Diese wirksamen Screening-Methoden sollen möglichst früh eine Veränderung von Geweben aufzeigen und greifen dann, wenn das Entstehen von Tumoren durch Vorbeugung nicht zu verhindern war [Chiesa et al. 1998].

Als Beispiel dafür kann die Einführung des Gebärmutter-Abstrichs (sog. Pap-Test) als flächendeckende Früherkennung des Zervixkarzinoms genannt werden. Dadurch konnte die Mortalität reduziert werden [Sawaya et al. 2001]. Die Inzidenz ist in Deutschland seit der Einführung des Screenings als jährliche Leistung der gesetzlichen Krankenkassen 1971 um über 60 % gesunken [Gustafsson et al. 1997]. Weltweit beträgt die Sensitivität für die Abstrichzytologie zur Erkennung dieses Karzinoms aktuell 66,3 % und die Spezifität 95,7 % [Nocon et al. 2010]. Solche Verfahren für die Früherkennung von Veränderungen der oralen Schleimhaut sollen in dieser Arbeit vorgestellt und bewertet werden.

## **2.2. Anatomie der Mundschleimhaut**

Die Mundschleimhaut kleidet die gesamte Mundhöhle aus und bedeckt dabei deren Weichgewebe sowie Maxilla und Mandibula. Sie besteht aus einer dünnen rosafarbenen Mukosa, die durch den Speichel feucht, glatt, glänzend und elastisch gehalten wird. Die Oberfläche wird von einem verhornenden, mehrschichtigen Plattenepithel bedeckt. Dieses Epithel ist aufgebaut aus

- dem Stratum basale (Basalzellschicht mit Zellregeneration)
- dem Stratum spinosum (Stachelzellschicht)
- und dem Stratum corneum (Hornschicht) [Reinhard et al. 2007].

Andere Autoren beschreiben den Aufbau des oralen Gingivaepithels wie folgt:

- Stratum basale
- Stratum spinosum
- Stratum granulosum
- Stratum corneum [Schroeder 1992].

Lippen, Wangen und Mundboden sind überzogen von mobiler, freier oder lokolabiler Schleimhaut, während die knöchernen Strukturen (harter Gaumen, Alveolarfortsätze, bzw. Kieferkamm) mit einer fixierten lokostabilen Mukosa verbunden sind [Schroeder 1992]. Diese feste Verbindung wird durch tiefe epitheliale Reteleisten bewirkt, die mit kollagenfaserreichen Bindegewebspapillen verzahnt sind. Ihre Oberfläche wird von einer orthokeratotischen Hornschicht, d.h. Hornlamellen ohne erhaltene Kernstrukturen, bedeckt. Die lokolabile Schleimhaut hat dagegen flache Reteleisten, eine locker aufgebaute Lamina propria und zeigt im Allgemeinen eine Parakeratose der Oberfläche, d.h. es finden sich Hornlamellen mit erhaltenen Kernstrukturen.

An der Oberfläche der Zunge liegt zur Herstellung der Geschmacksfunktion ein besonders spezialisiertes Epithel mit sensorischen Funktionen, welches direkt mit der Zungenmuskulatur verbunden ist. Die dünne supepitheliale Bindegewebschicht enthält ein dichtes Netzwerk von Kapillaren und Nerven [Reinhard et al. 2007].

Erkrankungen der Mundschleimhaut sind meist der direkten Inspektion zugänglich und daher gut zu erkennen. Von besonderer Bedeutung sind Veränderungen, die Vor- und Frühstadien einer malignen Transformation darstellen.

Klinische Veränderungen der Mundschleimhaut, eingeteilt nach deren Häufigkeit:

- entzündliche Veränderungen
- Aphthosen
- Traumatische und irritative Läsionen
- Systemische Erkrankungen
- Fehlbildungen und Fehldifferenzierungen
- metabolische Störungen
- Vor- und Frühstadien von Tumoren der Mundschleimhaut [Reinhard et al. 2007]



### 2.3. Maligne Tumoren der Mundhöhle

Unter Tumor versteht man eine abnorme Gewebemasse, die auf eine autonome, progressive und überschießende Proliferation körpereigener Zellen zurückgeht. Sie gliedert sich weder funktionell noch strukturell in das Normalgewebe ein und wächst auch dann noch weiter, wenn der auslösende Reiz nicht mehr vorhanden ist [Riede et al. 2001]. Dies wird auch als Geschwulst, Neubildung oder Wucherung bezeichnet. Die verursachenden Zellen verlassen die funktionelle und morphologische Ordnung des Organismus und wachsen autonom mit rascher Zellteilung. Das Tumorgewebe entdifferenziert, der Aufbau des Tumors weicht vom Aufbau des Ursprungsgewebes ab. Zellen werden in Geweben nachgewiesen, in denen sie regelhaft nicht vorkommen und es fehlt ihnen die Tendenz zur Rückbildung [Reichart 2002].

Malignität wird im Allgemeinen als Bösartigkeit eines Tumors mit infiltrierendem und destruierendem Wachstum definiert, wobei Veränderungen der Zellstrukturen bis zur totalen Entdifferenzierung und Metastasenbildung auftreten [Reuter 2004].

Die Plattenepithelkarzinome machen ungefähr 90% aller malignen Tumoren in der Mundhöhle und im Oropharynx aus [Klöppel et al. 2009] und haben eine Tendenz zu frühzeitiger Metastasierung [Reuter 2004].

Präkanzeröse Veränderungen (als Synonym werden auch Vorläuferläsion, Präkanzerose, präkanzeröse Läsion, potentiell maligne Läsion, Precursorläsion, etc. verwendet [AWMF Leitlinie 2010]) und die asymptomatische Frühphase des Mundschleimhautkarzinoms finden sich gehäuft ab dem fünften Lebensjahrzehnt und bei Männern deutlich häufiger als bei Frauen. Als prädisponierende Faktoren gelten vorrangig immer noch Tabak- und Alkoholabusus, sowie mangelnde Mundhygiene. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Zahl der Neuerkrankungen bei jüngeren Personen, Frauen und Patienten ohne die klassischen Risikofaktoren offenbar zunimmt [Reinhard et al. 2007].

Scully et al. beschrieben als relevante Risikofaktoren Tabak- und Alkoholkonsum, Betelkauen, Geschlecht und Sonnenlicht (für die äußeren Anteile der Lippen). Sie wiesen auch auf die Rolle von Candidiasis und dem humanen Papillomavirus bei der Entstehung des Plattenepithelkarzinoms hin [Scully et al. 2009]. Die World Health Organization (WHO) beschrieb, dass die dominanten Risikofaktoren Tabak- und Alkoholabusus einen starken synergistischen Effekt auf die Kanzerogenese ausüben [IARC 2004] und für 75 % aller malignen oralen und oropharyngealen Erkrankungen

in Europa, Amerika und Japan verantwortlich sind [Barnes et al. 2005]. Bei Alkoholkonsumenten und Rauchern kann dieser synergistische Effekt dazu führen, dass die Wahrscheinlichkeit ein orales Plattenepithelkarzinom zu entwickeln 38 mal größer ist als bei Personen, die weder Alkohol noch Tabak konsumieren [Blot et al. 1988]. Dieser Synergismus ist im hohen Maße multiplikativ für die Entstehung eines Karzinoms in der Mundhöhle sowie additiv für das Larynx- und Ösophaguskarzinom [Franceschi et al. 1990].

Charakteristisch für die Kanzerogenese im oberen Aerodigestivtrakt ist die Feldkanzerierung. Darunter wird eine prämaligene Schädigung anatomisch zusammenhängender Schleimhautregionen als Folge der flächigen Einwirkung exogener Noxen verstanden. Dieses Phänomen äußert sich durch das Auftreten von multiplen makro- oder mikromorphologischen präkanzerösen Schleimhautläsionen und syn- bzw. metachronen Zweitkarzinomen. Für die Entstehung solcher Zweitkarzinome sind drei Modelle denkbar: echte Sekundärtumoren, sekundäre Feldtumoren und Rezidive bzw. lokale Metastasen [Braakhuis et al. 2002].

Als klinische Symptome des Mundhöhlenkarzinoms gelten:

- Schleimhautirritationen
- spontan oder beim Kauen auftretende Schleimhautblutungen
- nicht-heilende Ulzera
- Gewebeverhärtungen
- Zahnlockerung
- Nichtpassen der Teil- oder Vollprothese
- Schmerzen oral (bei Knocheninvasion)
- Otalgie
- Schmerzen extraoral und Paralyse bei Metastasen [Reinhard et al. 2007].

Als typische Zeichen wird vor allem die Ulzeration genannt, wobei das Ulkus mit unregelmäßig lappiger Begrenzung, unterschiedlicher Tiefe und einem gelegentlich deutlich ausgeprägten peripheren und zirkulären Proliferationswall gekennzeichnet sein kann. Das Mundhöhlenkarzinom kann sowohl endophytisch, als auch exophytisch wachsen. Die klinisch deutlich imponierenden Symptome sind meist

Symptome des fortgeschrittenen, manifesten, oft bereits metastasierenden Karzinoms [Horch 2007].

Verschiedene Lokalisationen weisen unterschiedliche Risiken einer malignen Transformation auf. Als Risikolokalisation gelten Zungenrand, Zungenunterseite und Mundboden. Dagegen werden Wangenschleimhaut, Alveolarfortsatz und Gaumen als Lokalisation mit geringem Risiko angesehen [Reinhard et al. 2007].

Karzinomverdächtige Läsionen der Mundschleimhaut sind:

- Leukoplakie
- Erythroplakie
- Erythroleukoplakie
- Ulzera
- exophytische Gewebevermehrung
- braun-schwarze Pigmentierung [Reinhard et al. 2007].

#### **2.4. WHO-Dysplasie-System**

Verändertes Epithel zeigt eine Vielzahl struktureller und zytologischer Anomalien, die unter der Bezeichnung Dysplasie zusammengefasst werden [Klöppel et al. 2009]. Eine Dysplasie ist immer eine histopathologische Diagnose und ist mit einem erhöhten Risiko für das Entstehen eines Plattenepithelkarzinoms assoziiert [Jaber 2010]. Mehanna et al. beschrieben in ihrer Metaanalyse für eine histopathologisch diagnostizierte Dysplasie eine durchschnittliche maligne Transformationsrate von 12,1% [Mehanna et al. 2009].

Folgende Veränderungen der Architektur kennzeichnen eine epitheliale Dysplasie:

- irreguläre Epithelschichtung
- Verlust der Polarität der Basalzellen
- tropfenförmige Reteleisten
- erhöhte Mitosezahl
- oberflächliche Mitosen
- Dyskeratosen
- Hornperlen in den Reteleisten

Die zytologischen Anomalien der Dysplasie sind:

- Anisonukleose
- Kernpleomorphie
- Anisozytose
- erhöhte Kern/Plasma Relation
- atypische Mitosen
- Vermehrung und Vergrößerung der Nukleoli
- Hyperchromasie [Klöppel et al. 2009]

Das Dysplasie-System der WHO umfasst folgende Kategorien [Klöppel et al. 2009]:

A) Hyperplasie mit erhöhter Zellzahl:

Sie kann die Stachelzellschicht (Akanthose) oder die Basal- und Parabasalzellschicht (Basalzellhyperplasie) betreffen. Die Architektur des Epithels ist erhalten, keine Zellatypien.

B) Dysplasie mit drei Graden:

1. Geringe Dysplasie:

Architekturstörung begrenzt auf das untere Drittel des Epithels, begleitet von zytologischen Atypien.

2. Mittelgradige Dysplasie:

Architekturstörung ausgedehnt bis in das mittlere Drittel des Epithels, begleitet von zunehmendem Schweregrad zytologischer Atypien.

3. Schwere Dysplasie:

Architekturstörung in mehr als zwei Dritteln des Epithels mit assoziierten zytologischen Atypien, oder Architekturstörung im mittleren Drittel des Epithels mit hinreichenden zytologischen Atypien, um eine mäßige zu einer schweren Dysplasie hochzustufen.

C) Carcinoma in situ:

Die ganze oder fast die ganze Breite des Epithels zeigt Architekturstörungen, begleitet von ausgeprägten Zellatypien. Atypische Mitosen und abnorme oberflächliche Mitosen kommen vor [Barnes et al. 2005]. Ein Durchbruch durch

die Basalmembran liegt noch nicht vor, das invasive Tiefenwachstum fehlt demnach [Remmele 1996].

## **2.5. Intraepitheliale Plattenepithelneoplasie (WHO 2005)**

In der aktuellen WHO-Klassifikation maligner Tumoren des Kopfes und Halses von 2005 [Barnes et al. 2005] wurde das Konzept der intraepithelialen Neoplasie zur Klassifizierung präkanzeröser Läsionen eingeführt. Dieses hat sich bereits zur Beschreibung neoplastischer Vorläuferläsionen in anderen Organsystemen, wie z.B. Cervix uteri und Gastrointestinaltrakt, bewährt [Neid et al. 2009]. Die Bezeichnung lautet intraepitheliale Plattenepithelneoplasie und wird als SIN (squamous intraepithelial neoplasia) abgekürzt. Sie beschreibt den morphologisch fassbaren, d.h. auf histologischen und zytologischen Kriterien beruhenden Grad der Architekturstörung des Plattenepithels bei erhaltener Basalmembran. Sie wird in drei Grade unterteilt:

- SIN 1: niegriggradig
- SIN 2: mäßiggradig
- SIN 3: hochgradig

Entscheidend für diese Einteilung ist die Ausbreitung der Architekturstörung auf das untere, mittlere oder obere Epitheldrittel. Zelluläre Atypien, also zusätzliche Veränderungen der einzelnen Zelle, können den Grad erhöhen. Diese morphologische Einteilung ist identisch mit der bisherigen Nomenklatur der Epitheldysplasie. Jedoch wird eine Trennung zwischen hochgradiger SIN (SIN3) und Carcinoma in situ nicht vorgenommen. Die SIN 3 entspricht dem Carcinoma in situ und damit entfällt dieser Begriff [Neid et al. 2009].

## **2.6. Präkanzerose und präkanzeröse Kondition**

Eine Präkanzerose wird festgelegt als histopathologisch definierte Gewebeveränderung, in der maligne Tumoren sich häufiger entwickeln als in dem entsprechenden Normalgewebe [Wittekind 2006]. Als Synonyme gelten prämaligne oder präkanzeröse Läsion, präkanzeröse Veränderung, Vorläuferläsion, potentiell maligne Läsion, Precursorläsion, etc. [AWMF Leitlinie 2010]. Hauptvertreter sind die orale Leukoplakie mit ihren Unterformen und die Erythroplakie [Reichart 2003].

Davon sind die präkanzerösen Konditionen abzugrenzen. Diese sind definiert als klinisch oder anamnestisch definierter Zustand, bei dem mit erhöhter Häufigkeit mit dem Auftreten von präkanzerösen Läsionen und malignen Tumoren zu rechnen ist [Wittekind 2006], bzw. Einflüsse und Noxen (z.B. Rauchen, Alkoholabusus und vor allem die Kombination aus beiden), die zu erhöhtem Risiko einer Karzinomentstehung führen [Neid et al. 2009]. Typisch für alle präkanzerösen Konditionen sind die epitheliale Atrophie, die Erhöhung mitotischer Aktivität sowie die Reduktion von epithelialen Reparaturmechanismen [Reichart 2003].

Die WHO stellt mit Hilfe ihrer Einrichtung „International Agency for Research on Cancer (IARC)“ ihre Definitionen und Terminologien zu den Präkanzerösen wie folgt dar:

- I. Präkanzerosen
  - Leukoplakie
  - Erythroplakie
  - Erythroleukoplakie
  
- II. Präkanzeröse Kondition
  - Proliferierende verruköse Leukoplakie (PVL)
  - Eisenmangel
  - oraler Lichen planus
  - submuköse Fibrose
  - Syphilis
  - Lupus erythematodes
  - Epidermolysis bullosa dystrophicans
  - Xeroderma pigmentosum [Barnes et al. 2005]

## **2.7. Leukoplakie**

Die WHO hat die orale Leukoplakie 1978 als weißen nicht wegwischtbaren Fleck, der keiner anderen Erkrankung klinisch zugeordnet werden kann, definiert. Dabei handelt es sich um einen klinisch beschreibenden Begriff und nicht um eine histologische Bewertung [Reichart et al. 1999]. Bei der Feststellung einer möglichen Leukoplakie müssen Lichen planus, chronische Traumata, chronisches Wangenbeißen,

Kautabakkeratose, Rauchergaumen, Friktionskeratose, Leuködeme und der weiße Schwammzellnävus klinisch ausgeschlossen werden [Remmerbach 2005].

Die Leukoplakie ist die wichtigste Vorläuferläsion des oralen Plattenepithelkarzinoms und wird vereinfacht in eine homogene und inhomogene Form eingeteilt [Pindborg 1994], wobei ein sublinguales und linguales Auftreten die Lokalisation mit dem höchsten Entartungsrisiko darstellt [Batsakis 2003].

Die deutsche Gesundheitsstudie ergab, dass 2,3% aller Männer und 0,9% aller Frauen in Deutschland orale Leukoplakien aufweisen [Micheelis et al. 1999]. Die maligne Transformationsrate für alle Leukoplakieformen liegt in den westlichen Industrienationen zwischen 2% und 6% [Silverman et al. 1996]. Andere Autoren halten eine Transformationsrate von unter 0,5% für realistisch [van der Waal 2009].

Eine lange Persistenz, hohes Alter des Patienten und Lokalisation in sogenannten Hochrisikozonen (Mundboden und seitlicher Zungenrand) erhöhen das Transformationsrisiko. In homogenen Leukoplakien werden histologisch selten Dysplasien gefunden, Hauptkennzeichen sind Hyperortho- oder Hyperparakeratosen. Die homogene Form ist häufiger als die inhomogene. Die inhomogene Form zeigt sich meist als knotige oder verruköse weißliche Veränderung mit gelegentlich rötlichen oder erosiven Arealen. In der Regel stellt diese die Basis für Dysplasien, Carcinomata in situ oder Plattenepithelkarzinome dar [Remmerbach 2005].

Risikofaktoren, die statistisch signifikant die maligne Transformationsrate einer Leukoplakie erhöhen, sind:

- Weibliches Geschlecht des Patienten
- Lange Dauer des Bestehens der Leukoplakie
- Leukoplakie bei Nichtrauchern (idiopathische Leukoplakie)
- Lokalisation an Zunge oder Mundboden
- Größe > 200mm<sup>2</sup>
- Inhomogener Typ
- Nachweis von *Candida albicans*
- Vorhandensein von epithelialer Dysplasie [van der Waal 2009].

## **2.8. Diagnostische Hilfsmittel**

Nach dem Auffinden einer verdächtigen Schleimhautläsion besteht die Notwendigkeit, das Gefährdungspotential korrekt einzuschätzen und eine Verdachtsdiagnose zu bestätigen. Dazu stehen heute verschiedene Verfahren zur Verfügung, die im Folgenden kurz erläutert werden.

### **2.8.1. Klinische Inspektion und Palpation**

Die klinische Inspektion und Palpation stellt die häufigste Methode der Tumorfrüherkennung dar. Sie ist für den Behandler schnell und ohne besondere Hilfsmittel durchführbar und kann aus diesem Grund in jeder ärztlichen und zahnärztlichen Praxis durchgeführt werden. Diese Untersuchung ist dem Patienten vertraut, ist für ihn schmerzfrei und verursacht keinen finanziellen Aufwand. Folglich ist diese Untersuchungstechnik die gängigste Screening-Methode und die meisten oralen Plattenepithelkarzinome werden dadurch diagnostiziert [Reibel 2000]. Sie stellt zugleich die Grundlage für alle anderen weiteren Methoden dar, denn nur durch Sichtbefund erkannte orale Läsionen veranlassen den Behandler zu weiteren diagnostischen Maßnahmen [Remmerbach 2005].

### **2.8.2. Toluidinblau**

Toluidinblau zählt zu den absorptiven Farbstoffsubstanzen und wird für die Intravitalfärbung als einprozentige Lösung auf die Mundschleimhaut aufgetragen und nach einer Einwirkzeit von ein bis zwei Minuten mit zweiprozentiger Essigsäure wieder entfernt. Es diffundiert in die Zellen und färbt vor allem die Kernstrukturen an. Aufgrund der größeren Kern-Plasma-Relation sollen maligne Läsionen eine intensivere Blaufärbung aufweisen [Johnson 1999]. Diese Methode weist allerdings eine geringe Spezifität auf, da auch nicht maligne Bezirke mit hoher Proliferationsrate ein vergrößertes Kern-Plasma-Verhältnis zeigen können. Des Weiteren können maligne Läsionen nicht von Präkanzerosen unterschieden werden [Onofre et al. 2001].

### **2.8.3. 5-Aminolävulinsäure (5-ALA)**

Seit einigen Jahren wird der Einsatz von 5-ALA-induzierter Bildung von Protoporphyrin IX als Fluoreszenzmarker zur Detektion von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle erprobt. 5-ALA wird dabei als photosensibilisierender Farbstoff im



Überschuss als 0,4 prozentige Mundspüllösung topisch verabreicht und stimuliert in dysplastischen und karzinomatösem Gewebe eine verstärkte Bildung und intrazelluläre Akkumulation von stark fluoreszierendem Protoporphyrin IX. Dies geschieht durch die Kombination aus einer im Verhältnis gesteigerten Tumorgewebepenetration von ALA durch die funktionsgestörte Lipidbarriereschicht und einer beschleunigten Aufnahme der Substanz in die Tumorzellen sowie einem geänderten Aktivitätsmuster der Enzyme der Hämoglobinsynthese in transformierten Zellen [Remmerbach 2005]. Im Intervall von drei Stunden nach der topischen ALA-Applikation wird eine Fluoreszenzmessung durchgeführt. Das gebildete Protoporphyrin IX kann mittels Einstrahlung von blau-violettem Licht der Wellenlänge 405nm zur Fluoreszenz angeregt werden [Leunig et al. 1996]. Die positiven Fluoreszenzbefunde gelten als suspekt und können biopsiert werden.

Die Angaben für die diagnostische Genauigkeit liegen in der Literatur für die Sensitivität bei ca. 95 % bis 100 % [Zenk et al. 1999, Schleier et al. 2001] und für die Spezifität bei 51,3 % bis 80 % [Betz et al. 1994].

Einschränkungen liegen in der Bewertung von Narbengeweben, hyperkeratotischen Schleimhautarealen und Bereichen mit ausgeprägten Entzündungsreaktionen. Aufgrund der geringen Spezifität, des immensen technischen Aufwands und der hohen Kosten hat sich diese Methode nicht für den flächendeckenden Einsatz in der zahnärztlichen Praxis als Screening durchgesetzt und bleibt den spezialisierten Zentren vorbehalten [Remmerbach 2005].

#### **2.8.4. Autofluoreszenz**

Als Autofluoreszenz wird die biologische Eigenschaft von Geweben bezeichnet, aufgrund endogener Fluorophore (z.B. Flavin, Tryptophan, Elastin, Kollagen) bei Bestrahlung mit Licht einer definierten Wellenlänge zu fluoreszieren [Betz 1994]. Die Reduktion der Fluoreszenz im Grünbereich sichtbaren Lichtes gilt als charakteristisch für maligne Transformationen [Poh et al. 2006].

Hierbei ist im Gegensatz zur photodynamischen Diagnose keine medikamentöse Gabe von Photosensibilisatoren nötig. Neben einer malignen Transformation beeinflussen auch andere pathologische Prozesse wie Entzündungen und Ischämien den Metabolismus einer Zelle und den oxidativen Zustand von Geweben. Somit ist die Genauigkeit dieser Methode nicht abschließend geklärt, erste Ergebnisse für

Präkanzerosen der Mundschleimhaut weisen auf Vorteile bei der Früherkennung hin [Poh et al. 2006].

### **2.8.5. Biopsie**

Eine Biopsie ist eine diagnostische Maßnahme, bei der Gewebe oder Zellmaterial aus dem lebenden Organismus entnommen wird, um durch eine mikroskopische Untersuchung einen histologischen Befund anzufertigen. Solche diagnostischen Biopsien werden durchgeführt, um Diagnosen zu bestätigen oder auszuschließen. Meist wird dieser Begriff als Entnahme einer Gewebeprobe, also als chirurgische Maßnahme verwendet. Zytologische Untersuchungen von Abstrichen werden als Sonderform der Biopsie angesehen [Reichart et al. 1999].

Folgende Veränderungen der Mundschleimhaut gelten als Indikation für eine Biopsie:

- Weiße Mundschleimhautveränderungen von langer Dauer
- Ulzerationen, die mehr als 3 Wochen bestehen und nicht abheilen
- Grundsätzlicher Verdacht auf Malignität (Biopsie in Fachklinik)
- Persistierende Schwellung ohne eindeutige Diagnose
- Veränderungen, die nicht auf Therapie ansprechen

Es stehen zwei Methoden einer Biopsie zur Verfügung:

- Exzisionsbiopsie: Kleine Veränderungen (bis max. einen cm Durchmesser) werden mitsamt des normalen angrenzenden Gewebes in toto entfernt.
- Inzisionsbiopsie: Ist die Veränderung größer, wird ein repräsentatives Gewebestück an der Grenze zwischen normalem und pathologischem Gewebe entfernt. Es können von derselben Veränderung auch mehrere Gewebeproben entnommen werden.

Hinzu kommt noch die oft als Bürstenbiopsie benannte Exfoliativzytologie:

- Abstriche von der Oberfläche der Veränderung zur mikroskopischen Untersuchung von Zellen. Diese Methode wird im Folgenden genauer erläutert.

### 2.8.6. Exfoliativzytologie von Abstrichpräparaten

Die Exfoliativzytologie gilt seit den vierziger Jahren des letzten Jahrhunderts als eine wichtige und gering invasive Alternative zur klassischen Biopsie [Papanicolaou 1942, 1949]. Sie wird seit Jahrzehnten in der gynäkologischen Krebsvorsorge angewendet und hat zur Reduktion der Mortalität beim Portiokarzinom beigetragen [Sawaya et al. 2001]. Klinisch können nicht nur mit Epithel ausgekleidete Schleimhäute untersucht werden, auch in der Pulmonologie wird die Exfoliativzytologie zur Diagnostik von Sputum und Bronchiallavage angewendet [Berg et al. 2005].

Solche Abstrichuntersuchungen auch für orale Präkanzerosen einzusetzen, wurde bereits 1967 im Journal of the American Dental Association vorgeschlagen, galt allerdings über viele Jahre hinweg in der zahnärztlichen Anwendung als unzuverlässig [Ogden et al. 1997]. Obwohl auf zellulärer Basis die Vorgänge der malignen Transformation im Plattenepithel der Portio uteri und Mundschleimhaut keine grundlegenden Unterschiede aufweisen [Küffer et al. 2002], kann die klassische Exfoliativzytologie die Malignität einer oralen Läsion nicht mit hinreichender Sicherheit ausschließen. Dies ist im Wesentlichen mit der Besonderheit der Transformationszone der Portio uteri zu begründen: Sie liegt zwischen Plattenepithel und Drüsenepithel, ist morphologisch eindeutig als Risikoareal definiert und weist Zellen aus tieferen Schichten auf, die spontan an die Oberfläche gelangen. Somit können auch dysplastische Veränderungen der basalen Epithelschichten mit einer einfachen Abstrichtechnik erfasst werden [Sciubba 1999]. Anders verhält es sich in der oralen Mukosa: Atypische Zellen gelangen hier erst in späteren Stadien oder gar nicht an die Oberflächen, so dass eine Dysplasie an den oberflächlichen Zellen, die der klassischen Exfoliativzytologie zugänglich sind, nicht beurteilt werden kann [Bienengräber 1986]. Außerdem ist die Mundschleimhaut stärker verhornt und weist keine Umwandlungszone auf, wodurch bei einer einfachen Exfoliativzytologie falsch-negative Raten von 31 bis 62% nachgewiesen werden konnten [Dabelsteen et al. 1971, Folsom et al. 1972].

Mit modifizierten Entnahmetechniken wurde frühzeitig eine Erhöhung der Sensitivität und Spezifität dieser Abstrichmethoden in der Mundhöhle angestrebt [Pape 1972]. Tiefe Gewebeschichten, die mittels eines Watteträgers nicht zugänglich sind, sollten demnach mit einem scharfen Löffel gewonnen werden [Dumbach et al. 1981], wodurch allerdings der Vorteil der minimal-invasiven Biopsie verloren ging.

Moderne computergestützte Verfahren mit modifizierten Entnahmegbürsten scheinen diese Nische auszufüllen. Adjuvante Methoden zur Auswertung der Präparate oraler Bürstenbiopsien ermöglichen ohne großen technischen und zeitlichen Aufwand eine Abklärung von verdächtigen Mundschleimhautläsionen [Remmerbach 2005].

Die Namen OralCDx® - Computer-assistierte Auswertung aus den USA und ORCA-Brush® & DNA-Zytometrie aus Deutschland gewinnen dabei immer mehr an Bedeutung. Grundlage ist dabei immer die Exfoliativzytologie mittels Bürstenbiopsie. Die zytologische Auswertung (Bildanalyse oder DNA-Zytometrie) der Präparate erfolgt dann stets Computer-assistiert und wird von erfahrenen Pathologen überwacht.

In beiden Verfahren wird Zell- und Gewebematerial der Schleimhaut mit Hilfe einer geeigneten Bürste entnommen. Dabei werden alle Epithelschichten bis zur Basalzellschicht im Sinne einer Abrasionszytologie erfasst. Dies ist wichtig, da Basalzellen als Stammzellen und Ausgangspunkt einer malignen Transformation gelten. Dadurch unterscheidet sich die Bürstenbiopsie ganz essentiell von der konventionellen Abstrichzytologie oder der Bürstenzytologie, die beide nur oberflächliche Zellelemente erfassen können [Burkhardt 2006].

#### ORCA-Brush® & DNA Zytometrie

Die mittels Bürstenbiopsie entnommenen Zellen werden fixiert und nach Papanicolaou gefärbt. Die zytologische Untersuchung teilt die Präparate in folgende Kategorien ein:

- Sicher negativ: maligne Zellen sind nicht nachweisbar
- Zweifelhaft: maligne Zellen sind nicht auszuschließen (z.B. mit leichten oder mäßigen Dysplasien)
- Mit dringendem Verdacht: maligne Zellen wahrscheinlich (schwere Dysplasie)
- Sicher positiv: maligne Zellen nachweisbar

Zweifelhafte und dringend verdächtige zytologische Befunde werden mittels DNA-Zytometrie untersucht. Tumoren zeigen abweichende numerische und/oder strukturelle Chromosomenaberrationen [Sandberg 1990]. Somit kann der DNA-Gehalt der Zellkerne als diagnostischer Marker genutzt werden. DNA-Aneuploidie wurde in Plattenepithelien im Wesentlichen nur in malignen Zellen nachgewiesen [Remmerbach et al. 2005].

Die Zellkern-DNA wird nach Feulgen und Rossenbeck (1924) gefärbt und Computer-assistiert ausgewertet. Dabei werden mindestens 300 Zellkerne gemessen. Der Nachweis einer DNA-Aneuploidie in Dysplasien des Plattenepithels bestätigt diese als obligat präkanzerös bzw. prospektiv maligne. Somit ist die Indikation zur chirurgischen Entfernung und histologischen Nachuntersuchung gegeben [Remmerbach et al. 2005],

#### Oral CDx<sup>®</sup> & Computer-assistierte Bildanalyse

Diese Methode stellt ein Bildanalyseprogramm dar, das die im Abstrich transepithelial gewonnenen Zellen computergestützt auswertet, so dass dem Pathologen die Zellen präsentiert werden, die zytologische Anomalien aufweisen. Die Ergebnisse werden als positiv für Dysplasie oder Karzinom, atypisch, negativ oder unzureichendes Material angezeigt [Sciubba 2001].

Im Folgenden wird die Oral CDx<sup>®</sup> -Bildanalyse genauer dargestellt:

### **2.9. Oral CDx<sup>®</sup> - Die Computer-assistierte Auswertung**

Indikationen für eine Oral CDx<sup>®</sup> Bürstenbiopsie sind:

- persistierende Leukoplakie, Erythroplakie oder Erythroleukoplakie
- nicht-heilende Ulzeration ohne erkennbare Ursache
- Läsionen mit ungewöhnlicher Oberfläche (z.B. granulär)
- Überwachung von therapieresistenten mukokutanen Erkrankungen (z.B. Lichen planus)
- Überwachung persistierender Läsionen, die zuvor histologisch oder durch Bürstenbiopsie als unverdächtig erschienen (z.B. bei Rauchern)
- Überwachung von Läsionen bei Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen in der Vorgeschichte [Horch 2007].

Folgende Kontraindikationen sind zu beachten:

- Hochgradig malignitätsverdächtige Schleimhautläsionen
- Veränderungen mit Bedeckung durch intaktes, unauffälliges Epithel (z.B. Fibrom, Mukozele)
- Ulkuszentrum (kein Epithel) [Horch 2007].

Diese Biopsie-Methode gilt als nicht-invasiv oder minimal-invasiv, weil die Basalmembran in der Regel erhalten bleibt und so eine Regeneration ad integrum erfolgt.

Die Oral CDx<sup>®</sup>-Bürstenbiopsie wird in Deutschland von der Firma Pluradent AG & Co KG angeboten. Sie schreibt die Durchführung wie folgt vor:

Die zur Verfügung gestellte Bürste (siehe Abbildung 1 und 2, Kap. 10 - Anhang) wird mit Wasser oder Speichel des Patienten leicht angefeuchtet. Sie wird gegen die Läsion gedrückt, bis sich der Stiel leicht durchbiegt. Unter Druck wird die Bürste mindestens zehnmal (abhängig von der Dicke der Läsion) rotiert, bis sich feine rote Punkte in der Tiefe zeigen oder kleinste, punktförmige Blutungen auftreten. Eine Schleimhautanästhesie ist dabei nicht nötig.

Das Zellmaterial wird gleichmäßig auf dem Glasobjektträger verteilt und mit Alkohol (95% Ethylalkohol, 2,5% Carbowachs) fixiert. Nach einer Trocknungszeit von fünfzehn Minuten wird dieser in den mitgelieferten Kunststoffbehälter eingelegt. Die Bürste wird in ein Plastikröhrchen mit Fixationsflüssigkeit (4% Formalin) gegeben. Das verschlossene Röhrchen, der Behälter mit dem Glasobjektträger und der ausgefüllte Begleitschein (siehe Abbildung 3, Kap. 10 - Anhang) werden in dem frankiertem Umschlag an das CDx<sup>®</sup>-Labor in Reutlingen, Deutschland, geschickt, welches als einziges CDx<sup>®</sup>-Labor in Deutschland alle Bürstenbiopsien auswertet.

Die Bürstenbiopsie enthält ca. 50.000 bis 100.000 Zellen, wodurch eine manuelle Auswertung durch den Zytologen oder Pathologen nicht durchführbar ist. Bei Oral CDx<sup>®</sup> wird die Möglichkeit einer Computerauswertung mit Multiparameterzellanalyse ausgenutzt. Der Computer präsentiert nach einer solchen Analyse eine Zellgalerie von 192 am stärksten von der Norm abweichenden Zellen, die nun vom Pathologen am Mikroskop befundet werden können.

Weiterhin werden nur in dem deutschen CDx<sup>®</sup>-Labor die in der Bürste befindlichen Zellen nach Anfertigung des Ausstrichs in Paraffin eingebettet und histologisch untersucht, was immunhistologische und molekularbiologische Zusatzuntersuchungen erlaubt. Diese erweiterten diagnostischen Untersuchungen werden in anderen CDx<sup>®</sup>-Laboren (also in anderen Ländern) nicht durchgeführt.

Kein Verfahren ersetzt die abschließende Beurteilung durch den erfahrenen Histo- und Zytopathologen [Burkhardt 2006].

Die Befundkategorien des Oral CDx® Verfahrens werden in vier Gruppen eingeteilt:

- Negativ für epitheliale Atypien
- Positiv für Dysplasie oder Karzinom (invasive Abklärung angezeigt)
- Atypische Zellen (Therapie oder weitere Abklärung empfohlen)
- Unzureichendes Material (Wiederholung empfohlen)

Ein negativer Befund bedeutet, dass keine epithelialen Atypien gefunden wurden. Persistierende Läsionen sollten regelmäßig beobachtet werden und in Abständen erneut mit Oral CDx® getestet werden.

Eine positive Diagnose beweist das Vorhandensein von Zellatypien im Sinne einer Dysplasie oder das Vorhandensein von malignen Zellen. Die Mundschleimhautläsion stellt somit eine Präkanzerose oder ein Karzinom dar. Eine Absicherung dieser Diagnose durch eine Exzisionsbiopsie und histologischer Untersuchung lässt gleichzeitig eine Klassifikation und ein Grading zu, was dann Grundlage der Therapieplanung ist.

Der Befund „atypische Zellen“ gibt an, dass von der Norm abweichende epitheliale Veränderungen vorhanden sind. Diese Zellen können aus einer präkanzerösen oder karzinomatösen Läsion stammen oder aber auch aus benignen entzündlichen Veränderungen wie z.B. Ulkus oder Lichen planus stammen. Erscheinungsbild und Zusatzbefunde sind für das klinische Vorgehen unerlässlich. Bei Persistenz von drei bis vier Wochen sollte eine Kontroll-Bürstenbiopsie oder eine Exzisionsbiopsie durchgeführt werden [Burkhardt 2006]. Einige Autoren gaben an, dass dieses Verfahren entwickelt worden ist, um suspekte Läsionen zu untersuchen, die sonst keiner Biopsie unterzogen worden wären, weil die klinische Erscheinung als benigne eingestuft wären [Sciubba 1999, Eisen 2003].

Abbildung 4 (siehe Kap. 10 – Anhang) zeigt schematisch das diagnostische Vorgehen bei verdächtigen und unklaren Mundschleimhautläsionen unter Einbeziehung der Bürstenbiopsie.

## 2.10. Die Sensitivität und Spezifität der Computer-assistierten Bildzytometrie

Verschiedene Studien haben sich mit der Frage nach der Sensitivität und Spezifität der Computer-assistierten Bildanalyse beschäftigt.

Sciubba verglich in einer Doppelblind-Studie OralCDx® - Ergebnisse mit den Ergebnissen von Skalpell-Biopsien derselben verdächtigen Läsionen [Sciubba 1999]. Des Weiteren wurden ebenfalls OralCDx® - Untersuchungen an Läsionen durchgeführt, die klinisch als benigne eingestuft wurden. Bei 945 Patienten wurden mittels OralCDx® alle Fälle der histologisch nachgewiesenen oralen Dysplasien oder Karzinome auch als solche erkannt. Das ergibt eine Sensitivität von 100% und eine falsch negativ Rate von 0%.

Das Ergebnis für die Spezifität der positiven OralCDx® - Befunde ergab 100% und für die Spezifität der atypischen OralCDx® - Befunde 92,9%. In 4,5% der benigne eingestuft Läsionen wurde eine Dysplasie oder ein Karzinom entdeckt.

Scheifele et al. analysierten in ihrer Studie 103 OralCDx® - Ergebnisse aus 96 Läsionen an 80 Patienten [Scheifele et al. 2004]. Die histologischen Befunde wurden eingeteilt in orale Leukoplakie (OL) oder oralen Lichen planus (OLP) jeweils ohne Dysplasie, Dysplasie in OL oder OLP und orales Plattenepithelkarzinom. In sieben Fällen wurde unzureichendes Material entnommen. Die Bürstenbiopsie-Ergebnisse „atypische Zellen“ und „positiv für Dysplasie oder Plattenepithelkarzinom“ wurden als positiver Befund zusammengefasst. Die Untersuchung ergab eine Sensitivität für die Computer-assistierte Bildzytometrie von 92,3% und eine Spezifität von 94,3%.

Die als Oralmediziner spezialisierte Studiengruppe um Poate untersuchte auffällige Läsionen von insgesamt 112 Patienten [Poate et al. 2004]. Die CDx-Untersuchungen ergaben folgende Ergebnisse: positiv = 1, atypisch = 36 und negativ = 75. Durch die Skalpellbiopsie wurde der positive Befund als Plattenepithelkarzinom bestätigt. 33 der 36 atypischen Befunde wurden histologisch untersucht; es wurden 5 Karzinome und 9 Dysplasien gefunden, 19 Ergebnisse waren negativ. 15 der 75 negativen CDx-Befunde wurden ebenfalls weiter untersucht. Bei 1/15 wurde ein Karzinom, bei 5/15 eine Dysplasie diagnostiziert, 9/15 wiesen ein negatives Ergebnis auf. Die Sensitivität der OralCDx - Bürstenbiopsie ergab in dieser Studie 71,4%, die Spezifität



32%. Der positive Vorhersagewert lag bei 44,1% und der negative Vorhersagewert bei 60%.

Christian untersuchte in seiner Studie 930 Zahnärzte und Dentalhygieniker/innen während einer Konferenz 1999 und 2000 auf suspekte Läsionen der Mundschleimhaut [Christian 2002]. Es wurden bei 89 (9,7 %) dieser Probanden insgesamt 93 Läsionen entdeckt, die im Vorfeld als benigne Erscheinung eingestuft worden sind. Alle Läsionen wurden mittels der CDx<sup>®</sup> -Computer-assistierten Bildzytometrie ausgewertet. Befunde mit dem Ergebnis *atypisch* und *positiv* sollten zusätzlich mittels Skalpellbiopsie histologisch untersucht werden. 7/93 CDx<sup>®</sup> -Ergebnisse wiesen einen positiven Befund auf. Davon wurden 6/7 als atypisch und einer als positiv für Dysplasie oder Karzinom eingestuft. Von diesen 7 Veränderungen wurden 4/7 mittels Skalpellbiopsie untersucht (3 atypisch, 1 positiv), 3/7 Patienten (alle atypisch) haben dies unterlassen. Eine als atypisch eingestufte Läsion stellte sich in der histologischen Untersuchung als negativ heraus. Die restlichen Befunde (2 atypisch und 1 positiv) ergaben eine Dysplasie (Dysplasiegrad wurde nicht genannt).

Kosicki et al. analysierten 118 Bürstenbiopsien von insgesamt 100 Patienten [Kosicki et al. 2007]. 93/118 Biopsien von 79/100 Patienten wiesen einen negativen Befund auf. Alle atypischen, positiven und inadäquaten OralCDx<sup>®</sup> - Ergebnisse (n = 25 Biopsien) wurden mittels Skalpellbiopsie und histologischer Untersuchung überprüft. Bei 6 Patienten mit dem Befund positiv und 14 mit dem Befund atypisch wurden insgesamt 4 Plattenepithelkarzinome, 4 schwergradige Dysplasien, 1 mäßige Dysplasie und 4 leichte Dysplasien entdeckt.

Svirsky et al. verglichen OralCDx<sup>®</sup> - Ergebnisse mit Ergebnissen von Skalpell-Biopsien derselben verdächtigen Läsionen [Svirsky et al. 2002]. Von 243 Patienten mit positiven OralCDx<sup>®</sup> - Befund wiesen 79 eine Dysplasie und 14 ein Karzinom auf. 150 hatten ein negatives Ergebnis für Dysplasie oder Karzinom. Der positive Vorhersagewert eines OralCDx<sup>®</sup> - Befundes lag bei 38%.

Die Studiengruppe um Potter untersuchte 115 Fälle, die im Zeitraum Juni 2000 bis März 2002 am Oralpathologischen Institut der Universitätsklinik der Indiana

University einen negativen OralCDx - Befund aufwiesen [Potter et al. 2003]. Der Zeitraum zwischen Bürstenbiopsie und histologischer Untersuchung der Skalpelliopsie betrug im Durchschnitt 117 Tage (5-292 Tage). 4 Fälle wurden als maligne diagnostiziert (3,5%). Die Gruppe stellte dar, dass falsch negative Ergebnisse mit der OralCDx-Methode möglich sind und schlug vor, dass bei persistierenden Läsionen eine weiterführende histologische Untersuchung erfolgen sollte.

Navone et al. erforschten verdächtige Läsionen von 89 Patienten mit Erythroplakie, Leukoplakie oder Lichen planus [Navone et al. 2004]. Verglichen wurden die Ergebnisse der Bürstenbiopsie incl. DNA Zytometrie mit denen der Skalpelliopsie samt anschließender histologischer Untersuchung. Es wurde eine Sensitivität von 86,5%, eine Spezifität von 94,3% und ein positiver Vorhersagewert von 95,7% ermittelt.

Mehrotra et al. untersuchten in ihrer Studie an der Universität Allahabad, Indien, 94 Patienten mit verdächtigen Mundschleimhautläsionen [Mehrotra et al. 2008]. Es wurde jeweils eine Bürstenbiopsie mittels einer harten Kleinkind-Zahnbürste und eine Skalpelliopsie derselben Läsion vom selben Behandler durchgeführt. Die mittels Zahnbürste entnommenen transepithelialen Zellen wurden nach der Papanicolaou-Methode gefärbt und von zwei unabhängigen Pathologen untersucht. Es wurde keine Computer-assistierte Auswertung der Zellen durchgeführt. Von den 94 Bürstenbiopsien wiesen 15 unzureichendes Material auf. Von den 79 adäquaten Fällen wiesen 45 Patienten histopathologisch benigne Läsionen auf, wozu auch Erythroplakie, Leukoplakie ohne Dysplasie und orale submuköse Fibrose zählen. Bei 11 Patienten wurde eine Dysplasie und bei 28 ein Plattenepithelkarzinom diagnostiziert. Diese Studie ergab eine Sensitivität für die Bürstenbiopsie ohne Computer-assistierte Auswertung von 76,8 % und eine Spezifität von 93,3%. Die Arbeitsgruppe stellte deutlich heraus, dass die statistischen Werte für eine Bürstenbiopsie mit Computer-assistierter Bildauswertung deutlich besser sind.

Eisen et al. beschrieben in einem Artikel, dass CDx-Labore in den USA bis 2003 mehr als 110.000 Bürstenbiopsien auswerteten [Eisen et al. 2003]. Dabei wurde eine Falsch-Negativ-Rate von unter einem Prozent festgestellt. Sie stellten auch dar, dass

die Bürstenbiopsie primär nicht dasselbe Spektrum an verdächtigen Läsionen überprüfen sollte wie die Skalpellbiopsie. Sie beschrieben, dass die Bürstenbiopsie benigne erscheinende Läsionen testen sollte, die in der Vergangenheit entweder nur beobachtet oder ignoriert worden sind. Außerdem sollen damit persistierende Läsionen, auch mit negativem Ergebnis, regelmäßig kontrolliert werden.

Lingen et al. kamen zu dem Ergebnis, dass die Oral CDx-Bürstenbiopsie eine hohe Spezifität und Sensitivität für die Auffindung einer Dysplasie in einer als klinisch stark malignitätsverdächtigen Läsion hat [Lingen et al. 2008]. Bei Patienten mit geringem persönlichem Risiko und einer als benigne eingestuften Läsion ist die Testgenauigkeit reduziert und die falsch-positiv Rate erhöht. Sie beschrieben außerdem, dass dieses Verfahren besonders für Patienten mit multiplen Läsionen (vor allem wenn keine Karzinom-Vorgeschichte besteht) oder Patienten, deren Compliance niedrig ist (z.B. Verweigerung einer Überweisung zum Spezialisten), geeignet wäre.

Fedele beschreibt die Bürstenbiopsie als vielversprechende neue Diagnosetechnik, die noch nicht durch Evidenz-basierte Studien gestützt ist [Fedele 2009].

In ihrer Studie von August 1999 bis November 2002 untersuchten Rick et al. 100 Patienten bei denen erst eine Bürstenbiopsie und danach eine Skalpellbiopsie an derselben Läsion durchgeführt wurde [Rick et al. 2003]. Es wurde eine falsch-positiv Rate von 84% und eine falsch-negativ Rate von 1% beschrieben. 2% der Bürstenbiopsien wiesen unzureichendes Zellmaterial auf und mussten wiederholt werden. Der positive Vorhersagewert betrug 10% und der negative Vorhersagewert 3%.

Bhoopathi et al. untersuchten Läsionen, die einen positiven OralCDx Befund aufwiesen (n = 152, davon 149 mit atypischen epithelialen Zellen und 3 positiv für Dysplasie oder Karzinom) mittels Skalpellbiopsie [Bhoopathi et al. 2009]. Sie ermittelten einen positiven Vorhersagewert für die vorausgegangenen OralCDx Befunde von 7,9%. Die falsch-positiv Rate lag bei 92,1%. Von den 3 als positiv mittels Oral CDx getesteten Läsionen erwies sich eine als Dysplasie.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in den hier genannten Studien keine Homogenität über die Ergebnisse der Sensitivität und Spezifität der Computer-assistierten Bildzytometrie vorliegt. Die ermittelten Werte für die Sensitivität lagen zwischen 92,3% [Scheifele et al. 2004] und 71,4% [Poate et al. 2004], für die Spezifität zwischen 100% [Sciubba 1999] und 32% [Poate et al. 2004]. Des Weiteren variierte der positive Vorhersagewert zwischen 95,7% [Navone et al. 2004] und 7,9% [Bhoopathi et al. 2009] während der negative Vorhersagewert zwischen 60% [Poate et al. 2004] und 3% [Rick et al. 2003] benannt wurde. Die falsch-negativ Rate wurde als 1% oder weniger beschrieben [Rick et al. 2003, Eisen et al. 2003] während die falsch-positiv Rate zwischen 92,1% [Bhoopathi et al. 2009] und 84% [Rick et al. 2003] lag.

Eine zuverlässige Aussage über die Wertigkeit der Computer-assistierten Bildzytometrie erscheint auf Grund der teils stark variierenden Ergebnisse nicht sicher möglich zu sein. In der vorliegenden Studie sollte deshalb der Verlauf der Patienten, bei denen der Nachweis mittels Oral CDx positiv oder atypisch lautete, untersucht werden. Es handelte sich hierbei um Patienten, die primär keiner Biopsie zugeführt worden wären.

### 3. Herleitung einer Aufgabenstellung

Ziel dieser retrospektiven Studie war es, den klinischen Verlauf von Patienten zu untersuchen,

1. bei denen eine Oral CDx Bürstenzytologie bei Mundschleimhautveränderungen, die klinisch vom Untersucher als benigne eingestuft wurden und daher a priori nicht einer Biopsie zugeführt worden wären, durchgeführt wurde  
und
2. deren Oral CDx Befund als atypisch oder positiv für Dysplasie / Karzinom eingestuft wurden.

Mit Bezug darauf wurden Befunde von Patienten niedergelassener deutscher Zahnärzte ausgewertet. Schwerpunkt lag auf Patienten, bei denen im Anschluss an die OralCDx Bürstenzytologie eine histopathologische Untersuchung durchgeführt wurde.

## 4. Patienten und Methoden

### 4.1. Patienten

Für die vorliegende Studie wurden die Daten aller Patienten gesammelt, bei denen im Zeitraum 01.01.2003 bis 30.09.2006 in Deutschland eine primär klinisch nicht malignitätsverdächtige Läsion mittels OralCDx Technik untersucht wurde. In Deutschland werden alle OralCDx Bürstenzytometrien von demselben pathologischen Institut, dem CDx® -Labor in Reutlingen (Pathologie-Praxis Reutlingen, Prof. Dr. med. A. Burkhardt, Obere Wässere 3-7, 72764 Reutlingen) ausgewertet. Die Patientendaten konnten von diesem Labor gewonnen werden.

In die Studie einbezogen wurden alle Befunde, die als atypisch oder positiv für Dysplasie oder Karzinom eingestuft wurden. Dieses Vorgehen scheint gerechtfertigt, da für diese Ergebnisse eine Skalpell-Biopsie der Läsion zur weiteren Untersuchung vorgesehen ist.

### 4.2. Patienten-Basisdaten

Grundlage der Auswertung waren die vom jeweiligen Behandler ausgefüllten Begleitscheine, die jedem Oral CDx Set beilagen (Abb.3, Kap. 10 - Anhang).

Folgende Daten wurden dadurch erhoben:

- Alter
- Geschlecht
- Lokalisation der Entnahmestelle
- Farbe
- Symptome
- Erscheinungsbild
- Dauer des Bestehens der Veränderung
- Tabakkonsum

Den Untersuchern wurde neben einem persönlichen Anschreiben (Abb. 5, Kap. 10 - Anhang) ein „Follow-Up“-Formular (Abb. 6, Kap. 10 - Anhang) für jeden Patienten zugesandt. Die Fragen bezogen sich auf eine eventuell durchgeführte

Exzisionsbiopsie, deren Ergebnis und die weitere Beobachtung der Läsion. Ein Freiumschlag lag jedem Schreiben bei, damit den Untersuchern möglichst keine Kosten entstehen würden, die eine Kooperation verhindern könnten. Als Dankeschön wurden jedem Behandler pro ausgefülltem „Follow-Up“-Formular 2 Oral CDx Test Kits kostenlos zugesandt. Damit sollte eine möglichst hohe Zahl an Antworten erreicht werden.

Bei den Untersuchern selbst handelte es sich vor allem um niedergelassene Zahnärzte und Oralchirurgen aus ganz Deutschland. Die Anzahl der Untersucher betrug (n =) 135.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Ergebnisse der Bürstenbiopsien

In dieser Studie wurden alle positiven Oral CDx Befunde im Zeitraum 1.1.2003 bis zum 30.9.2006 in Deutschland untersucht. Es handelt sich insgesamt um n = 243 Befunde. Davon waren 13 positiv für ein Karzinom oder eine Dysplasie, 230 wiesen atypische Zellen auf.

Von den 243 Fragebögen wurden 176 von den Behandlern ausgefüllt und zurück gesendet (davon 8 Patienten mit dem Ergebnis positiv und 168 atypisch), was einem Wert von 72,4% entspricht. Bei 106 (davon 6 positiv und 100 atypisch) der 176 Patienten wurde im Anschluss an die Bürstenbiopsie eine Skalpellbiopsie durchgeführt (60%).

#### *Alter (Tab. 1)*

Der Medianwert des Alters zum Zeitpunkt der Bürstenbiopsie betrug 64 Jahre (Frauen 66 Jahre; Männer 63 Jahre).

#### *Geschlecht (Tab. 1)*

Von den 176 Patienten waren 49% Frauen und 51% Männer (Frauen n = 87, Männer n = 89).

#### *Lokalisation der Entnahmestelle (Tab. 2 und 3)*

Die Lokalisation der Läsionen war breit gefächert. Besonders oft wurden Läsionen am harten Gaumen untersucht (20,6%) oftmals in Kombination mit dem weichen Gaumen. Weitere häufige Bereiche waren Mundboden, Planum buccale und die alveoläre Schleimhaut. Auffällig war, dass es zu einigen Mehrfachnennungen bei der Lokalisation kam. Insgesamt wurden bei 176 Bürstenbiopsien 215 Entnahmestellen angegeben. Tabelle 3 stellt diese Mehrfachnennungen dar.

#### *Farbe der verdächtigen Läsion (Tab. 4 und 5)*

Die Farbe der Läsionen war relativ gleichmäßig auf alle Antwortmöglichkeiten verteilt, es gab wie schon bei der Lokalisation einige Mehrfachnennungen. Tabelle 4 stellt die



Farbe der Veränderungen prozentual dar, Tabelle 5 weist die Kombinationen der Mehrfachnennungen auf.

#### *Symptome (Tab. 6)*

50% der Patienten gaben an, dass sie keine Symptome gespürt haben. In ungefähr gleichen Anteilen wurden Schmerzen oder Blutungen angegeben (20% + 15%).

#### *Erscheinungsbild (Tab. 7)*

Das Erscheinungsbild wurde jeweils zu einem Drittel als flach oder plaqueartig bezeichnet. In 20% erschien es verrukös.

#### *Dauer des Bestehens der Veränderung (Tab. 8)*

Das Auftreten der meisten Läsionen hatte einen unbekanntem Zeitpunkt (38,5%) oder es lagen 6 Monate oder weniger seitdem zurück (27,7%).

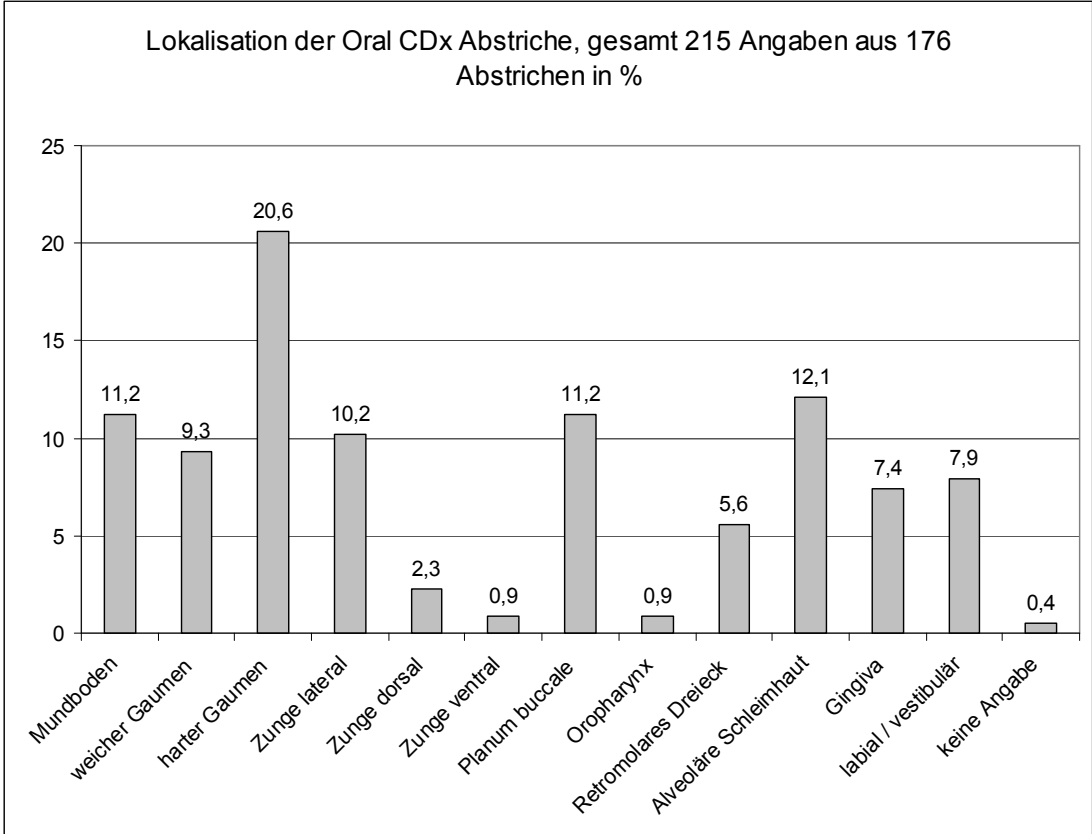
#### *Tabakkonsum (Tab. 9)*

Ca. 60% der Patienten waren Nichtraucher und 30 % Raucher. 8% der Behandler machten keine Angabe.

Tab. 1: Anzahl und Alter der Patienten nach Geschlecht getrennt.

	Gesamt	Frauen	Männer
Anzahl	n = 176	49%	51%
Medianwert Alter	64	66	63

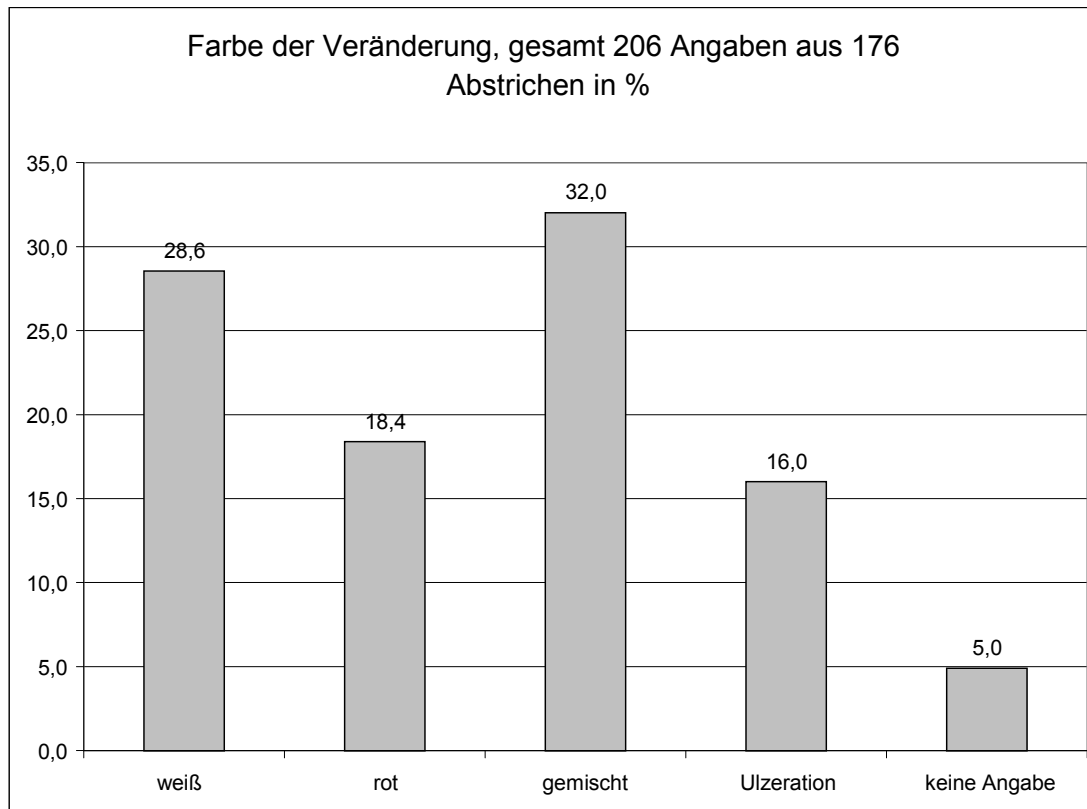
Tab.2: Lokalisation der Befunde:



Tab. 3: Darstellung der Mehrfachnennungen bei der Lokalisation in der vorliegenden Studie. Sortierung nach anatomischer Nähe und Häufigkeit.

Kombination der Lokalisationen	Anzahl (n=)
weicher + harter Gaumen	9
Harter Gaumen + retromolares Dreieck	1
Harter Gaumen + Gingiva	1
Weicher Gaumen + Oropharynx	1
Weicher + harter Gaumen + Oropharynx	1
Harter Gaumen + Planum buccale + alv. Schleimhaut	1
Alveoläre Schleimhaut + Gingiva	1
Gingiva + labial / vestibulär	5
Alveoläre Schleimhaut + labial / vestibulär	1
Alveoläre Schleimhaut + Gingiva + labial / vestibulär	1
Planum bucc. + alv. Schleimhaut + Gingiva + labial / vestibulär	1
Zunge lateral + Zunge dorsal	1
Zunge lateral + Zunge ventral	1
Zunge lateral + Planum buccale	1
Mundboden + Zunge lateral	1
Mundboden + alveoläre Schleimhaut	1
Mundboden + Gingiva	1
Planum buccale + retromolares Dreieck +alv. Schleimhaut	1
Retromolares Dreieck + Gingiva + labial / vestibulär	1
Planum buccale + labial / vestibulär	1

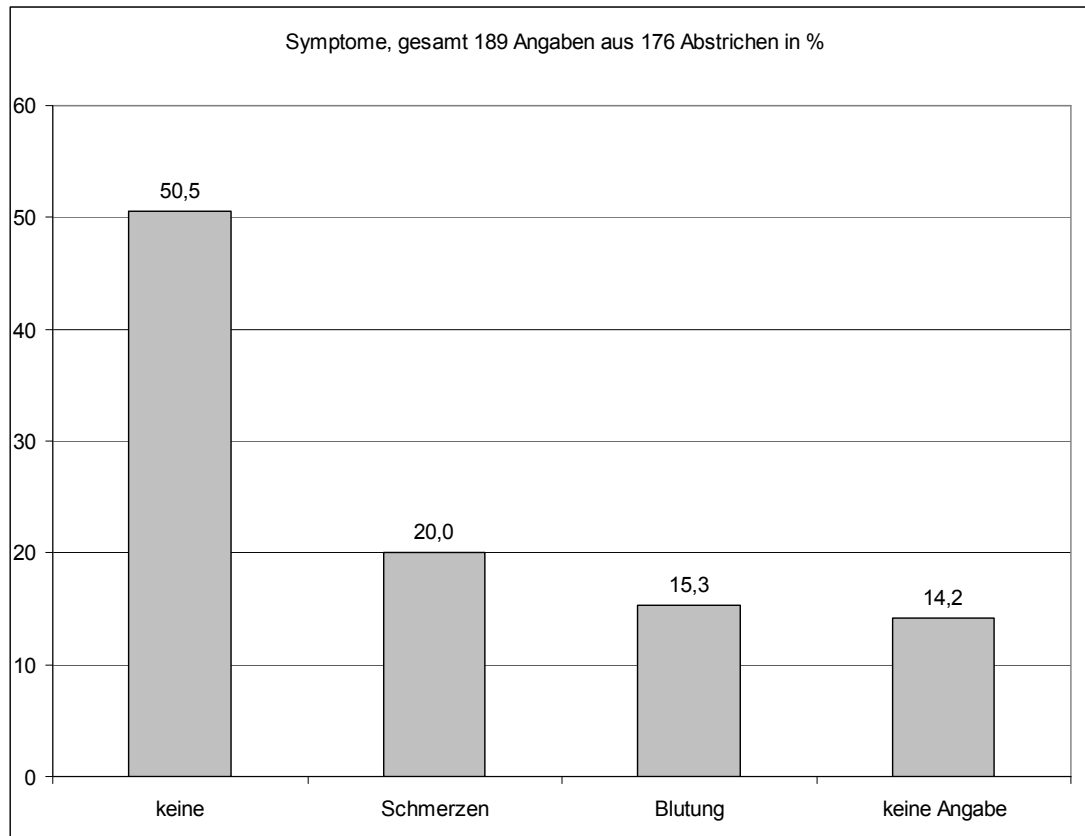
Tab.4: Farbe der Veränderungen:



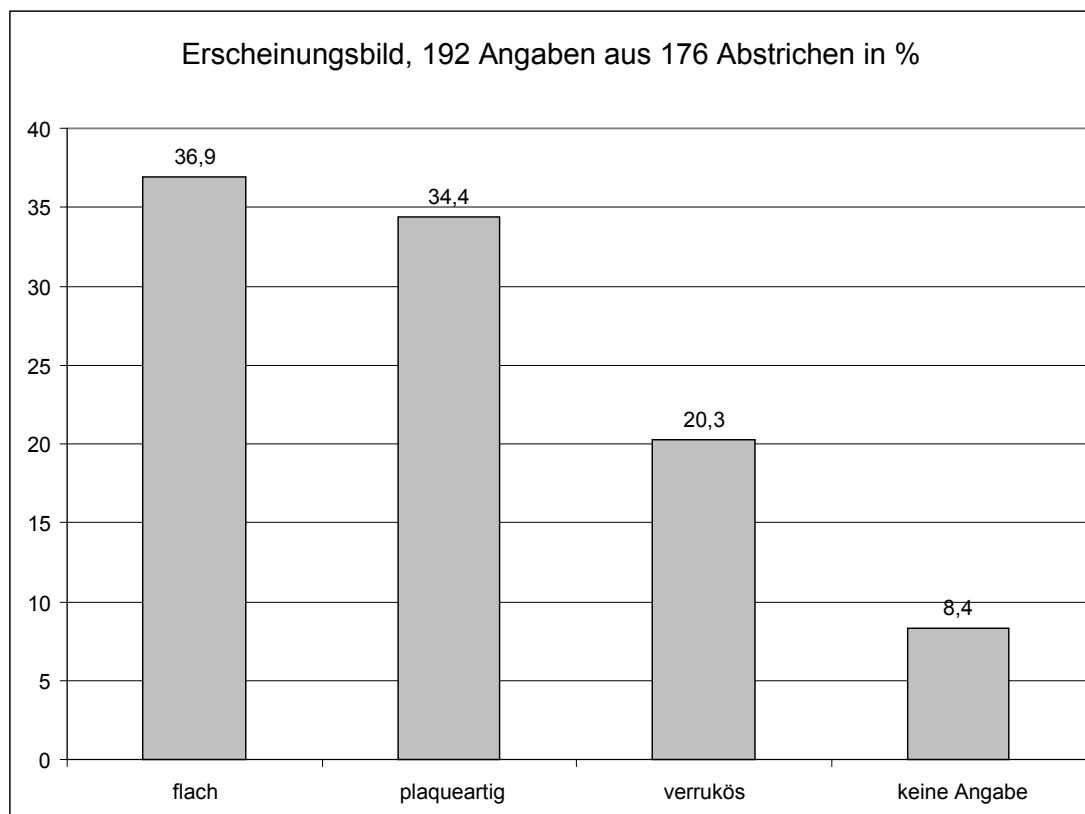
Tab. 5: Darstellung der Kombination der Mehrfachnennung bei der Farbe der Läsion

Farbe der Läsion	Anzahl
Gesamtzahl der Angaben, n =	206
Weiß	50
Rot	30
gemischt	50
Ulzeration	5
Keine Angabe	10
gemischt + Ulzeration	13
Rot + Ulzeration	7
Weiß + Ulzeration	7
Weiß + gemischt	2
Weiß + rot + gemischt	1

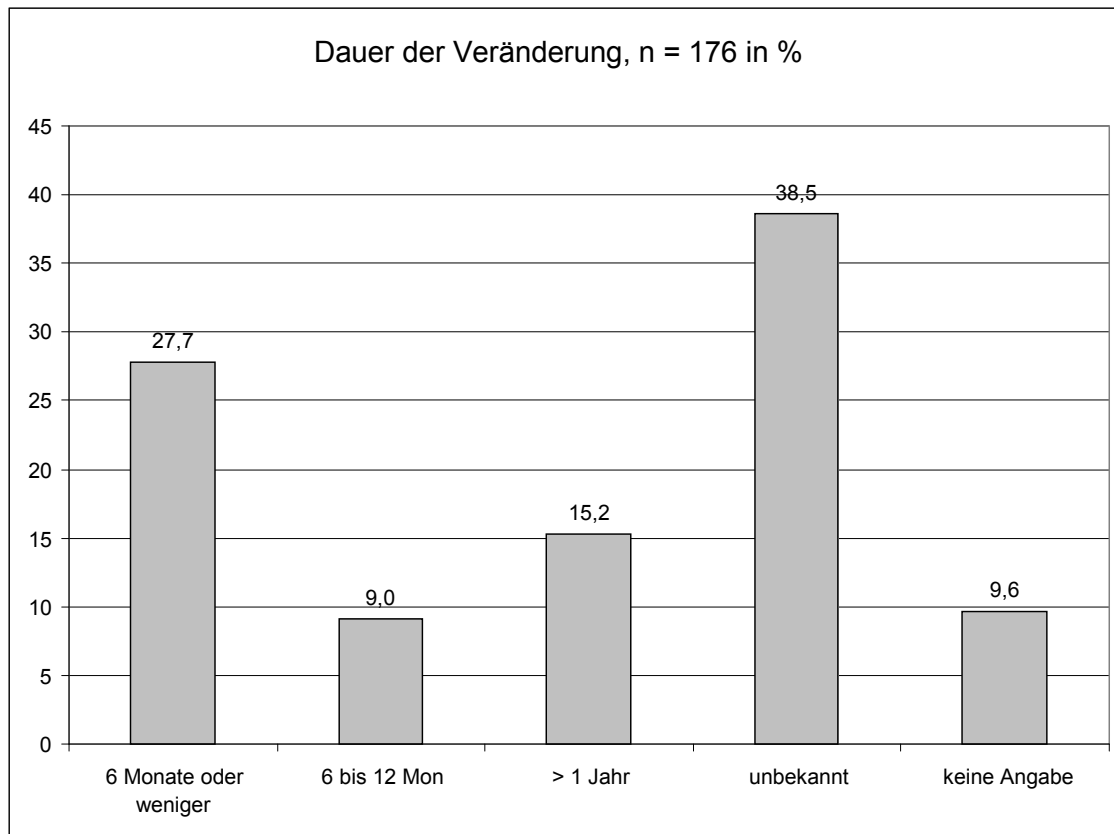
Tab.6: Symptome, die vom Patienten angegeben worden sind:



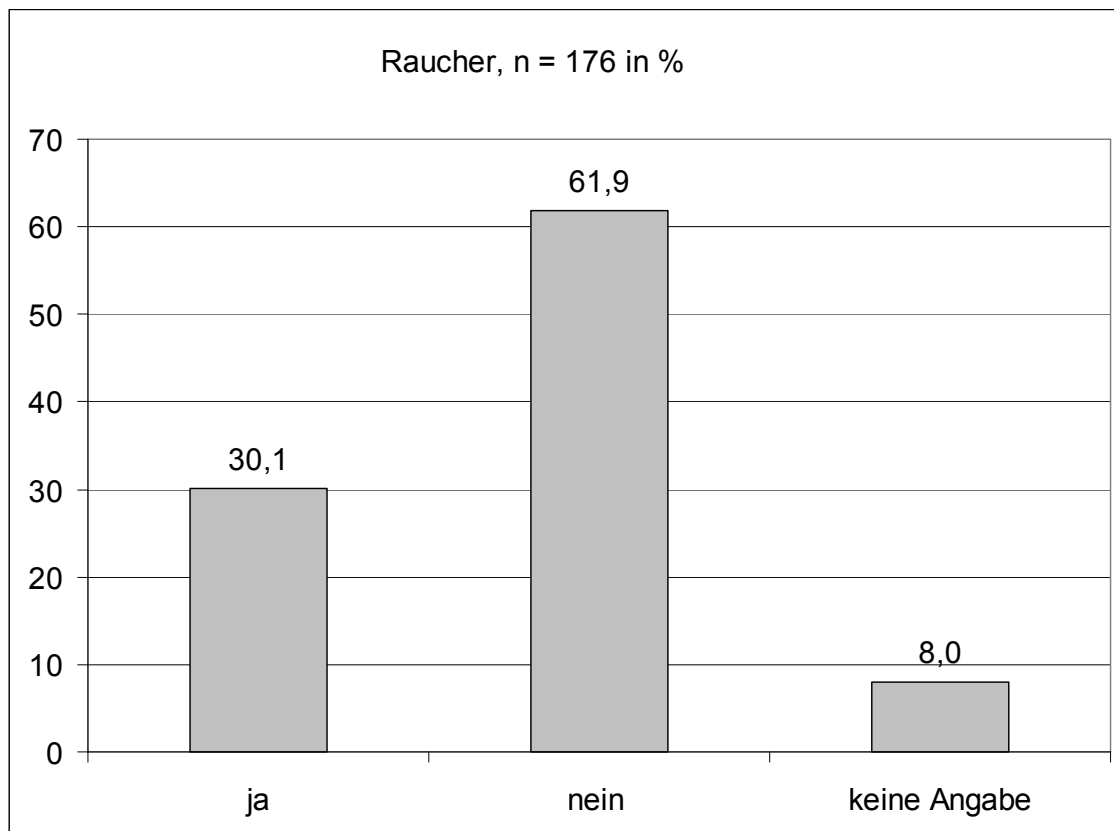
Tab.7: Erscheinungsbild bei der klinischen Untersuchung:



Tab. 8: Dauer des Bestehens der Veränderung:



Tab. 9 Tabakkonsum:



## 5.2. Ergebnisse der Biopsien / Gewebeproben

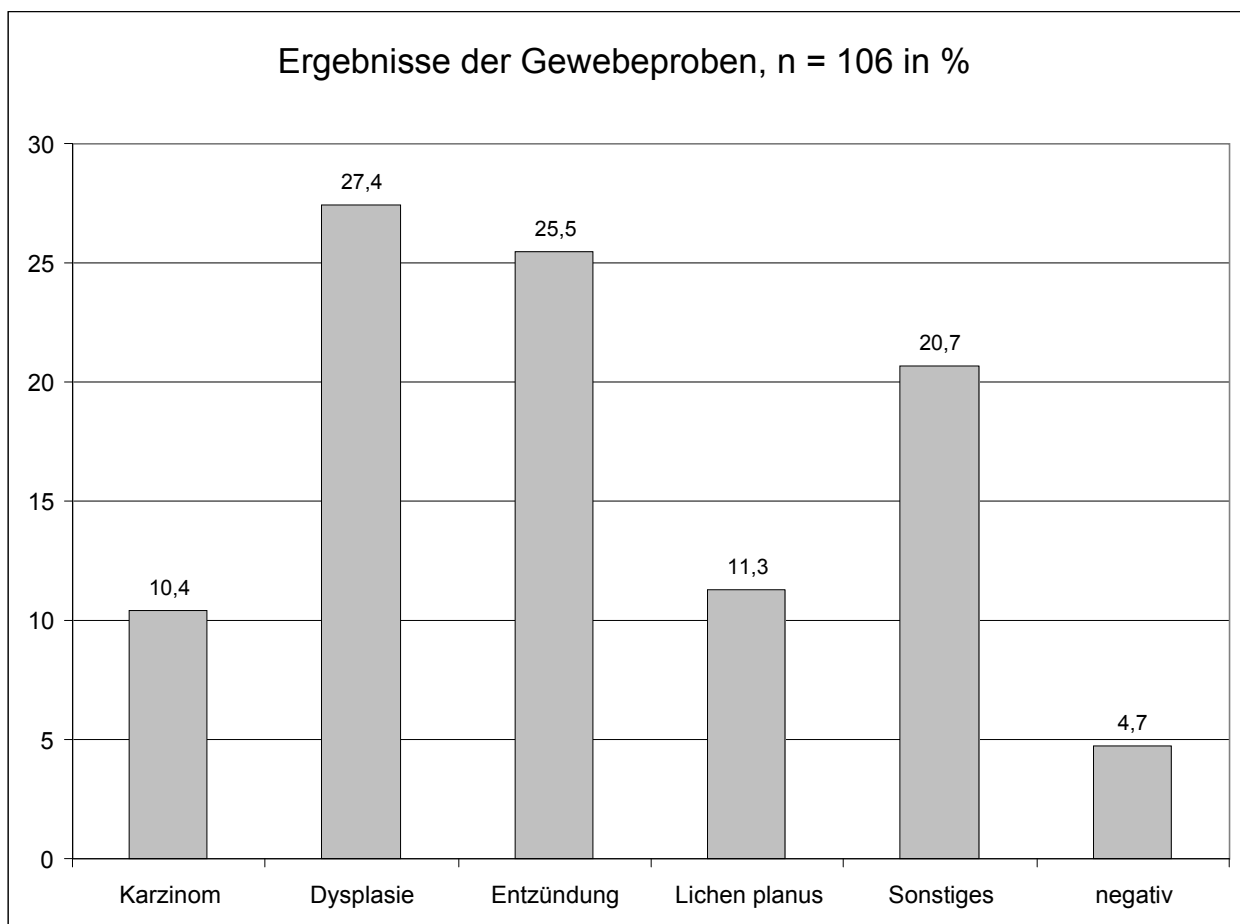
Von den 176 Patienten wurde in 106 Fällen nach Erhalt des Ergebnisses der Bürstenbiopsie eine Gewebeprobe mittels Skalpellbiopsie durchgeführt.

Die Ergebnisse, dargestellt in Tabelle 10, ergaben in 11 Fällen ein Karzinom und in 29 Fällen eine Dysplasie. Die Grade wurden eingestuft als 4 schwere, 13 mittelgradige und 12 geringe Dysplasien.

27 Fälle ergaben eine Entzündung, 12 einen oralen Lichen planus, 22 eine sonstige Veränderung und 5 Fälle waren negativ.

In fünf von 106 Fällen ergab die Skalpellbiopsie nach erfolgter positiver Bürstenbiopsie ein negatives Ergebnis. Somit liegt der falsch-positive Vorhersagewert bei 5,3%.

Tab. 10: Ergebnisse der Skalpellbiopsien:



Als sonstige Veränderungen (n = 22) wurden angegeben:

- Leukoplakie, n = 7
- Candidiasis, n = 5
- Papillom, n = 3
- Reizfibrom, n = 3
- Ulzera, n = 2
- Lichenoide Reaktion, n = 1
- Sialometaplasie, n = 1



## 6. Diskussion

### *Alter*

Der Medianwert des Alters der Patienten zum Zeitpunkt der Bürstenbiopsie betrug in der vorliegenden Studie 64 Jahre. Getrennt nach Geschlecht ergab dies 66 Jahre für Frauen und 63 Jahre für Männer. Reinhard et al. beschrieben, dass sich präkanzeröse Veränderungen und die asymptomatische Frühphase des Mundschleimhautkarzinoms gehäuft ab dem fünften Lebensjahrzehnt finden [Reinhard et al. 2007]. Remmele gab an, dass der Altersdurchschnitt beim Auffinden eines Plattenepithels der Mundhöhle bei 64,5 Jahren liegt [Remmele 1996]. In der Studie von Kosicki et al. wurden ebenfalls atypische und positive CDx Befunde durch eine Skalpelliopsie weiterführend untersucht [Kosicki et al. 2007]. Das Durchschnittsalter der Patienten (n = 100) betrug 55,6 Jahre (Frauen 57,3; Männer 53,9). In anderen Studien lag das Durchschnittsalter der Patienten bei 55 [Sciubba 1999], 58,6 [Scheifele et al. 2004], 55,7 [Poate et al. 2004] und 49 Jahre [Christian 2002]. Tabelle 11 fasst den Altersdurchschnitt der verschiedenen Studien zusammen. In der vorliegenden Studie war das Gesamtdurchschnittsalter höher als in den anderen Studien. Die Tendenz, dass zum Zeitpunkt der Bürstenbiopsie weibliche Patienten älter waren als männliche, konnte wie in den anderen Studien gezeigt werden. Als Ursache kamen Tabakkonsum und Alkoholabusus in Frage. Beides war für lange Zeit in der Gesellschaft hauptsächlich den Männern vorbehalten, so dass verdächtige Veränderungen an der Mundschleimhaut bei ihnen eher auftraten. Zudem tritt das Plattenepithel der Mundhöhle bei Männern häufiger auf als bei Frauen (vgl. Kapitel 2.3), so dass verdächtige Läsionen bei älteren Männern wahrscheinlich eher durch eine Skalpelliopsie weiterführend untersucht wurden.

Tab. 11: Altersdurchschnitt der Patienten in Jahren bei verschiedenen Studien zur Oral CDx Bürstenzytologie:

	Gesamt	Frauen	Männer	Anzahl Patienten, n =
Volmajer [2011]	64	66	63	176
Kosicki et al. [2007]	55,6	57,3	53,9	100
Sciubba [1999]	55	-	-	945
Scheifele et al. [2004]	58,6	64,3	53,2	80
Poate et al. [2004]	55,7	-	-	112
Christian [2002]	49	-	-	89

*Geschlecht*

Der prozentuale Anteil der Geschlechter in dieser Studie lag ausgeglichen bei 49% für Frauen und 51% für Männer. Morgenroth beschrieb, dass das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle 3-mal häufiger bei Männern auftritt als bei Frauen [Morgenroth 1996] und auch Reinhard et al. bestätigten ein deutlich höheres Risiko bei Männern. Die Autoren wiesen aber auch darauf hin, dass die Anzahl der Neuerkrankungen gerade bei Frauen, jungen Patienten und Patienten ohne die klassischen Risikofaktoren zunimmt [Reinhard et al. 2007].

In einigen Studien war die Geschlechterverteilung ebenfalls ausgeglichen, wie zum Beispiel bei Sciubba, 53% Frauen und 47% Männer [Sciubba 1999] und Poate et al. (50 Frauen, 62 Männer) [Poate et al. 2004]. Hierbei bestand die Möglichkeit, dass orale Veränderungen der Mundschleimhaut bei männlichen Patienten aufgrund des geschlechtlichen Risikofaktors für eine maligne Transformation von verdächtigen Läsionen, direkt mittels einer Skalpellbiopsie untersucht wurden und die Gruppe der weiblichen Patienten in Relation dazu größer wurde. Andere Studien wiesen in der untersuchten Patientengruppe einen höheren Anteil von Männern auf. Dazu zählten Scheifele et al. (33 Frauen, 47 Männer) [Scheifele et al. 2004], Kosicki et al. (37%

Frauen, 63% Männer) [Kosicki et al. 2006] und Christian (31 Frauen, 58 Männer) [Christian 2002]. Diese Studien schienen die oben genannte Literatur von Morgenroth und Reinhard et al. zu bestätigen [Morgenroth 1996, Reinhard et al. 2007], was auf höheren Tabakkonsum und Alkoholabusus bei Männern zurückzuführen war (siehe Kap. 6 – Diskussion – *Alter*).

#### *Lokalisation der Entnahmestelle*

Als Risikolokalisation für maligne Veränderungen der Mundhöhle gelten Zungenrand, Zungenunterseite und Mundboden [Reinhard et al. 2007]. In der vorliegenden Studie machten diese Regionen 22,3% aller Entnahmestellen aus. Wangenschleimhaut, Alveolarfortsatz und Gaumen gelten nicht als Risikolokalisation [Reinhard et al. 2007]. Diese Gebiete machten einen Anteil von 53,2% aus. Auffällig war die hohe Anzahl von untersuchten Läsionen am weichen und harten Gaumen mit insgesamt 29,9%.

In der Studie von Sciubba [Sciubba 1999] wurden die insgesamt 945 entnommenen Bürstenbiopsien denselben Lokalisationen zugeordnet, wie in der vorliegenden Studie, da der von den Behandlern auszufüllende Begleitschein fast identisch war. Nur die Strukturen „alveoläre Schleimhaut“ und „labial / vestibulär“ wurden zur Bezeichnung „alveolar and labial mucosa“ zusammengefasst. In der Studie von Poate et al. [Poate et al. 2004] wurden 112 Bürstenbiopsien untersucht und unter fast identischen Gesichtspunkten ausgewertet. Lediglich die Strukturen „labial sulcus“ und „buccal sulcus“ waren hier zusätzlich aufgeführt. Die Ergebnisse zu den Lokalisationen sollen hier ebenfalls verglichen werden. Tabelle 12 stellt die Werte prozentual gegenüber. Erwähnt werden soll, dass in der vorliegenden Studie nur per Computer-assistierter Bildzytometrie getestete positive Befunde vorlagen (n = 176, davon 8 Oral CDx positiv für Karzinom oder Dysplasie und 168 atypische Zellen), während in den anderen Studien bei verdächtigen klinischen Läsionen ebenfalls negative Oral CDx Befunde mit aufgenommen wurden. Bei Sciubba [Sciubba 1999] waren von 945 Bürstenbiopsien 80 positiv, 166 atypisch und 699 negativ, während bei Poate et al. [Poate et al. 2004] von insgesamt 122 einer positiv, 36 atypisch und 75 negativ waren.

Tab. 12: Vergleich der Lokalisation der Entnahmestelle in % mit anderen Studien [Sciubba 1999, Poate et al. 2004]:

	Volmajer [2011]	Sciubba [1999]	Poate et al. [2004]
Gesamtzahl (n =)	215	945	112
Mundboden	11,2	5,7	8,0
weicher Gaumen	9,3	2,2	8,0
harter Gaumen	20,6	5,7	7,1
Zunge lateral	10,2	15,1	20,5
Zunge dorsal	2,3	5,0	3,6
Zunge ventral	0,9	6,1	6,3
Planum buccale	11,2	25,7	22,3
Oropharynx	0,9	0,3	1,8
retromolares Dreieck	5,6	2,8	2,7
alveoläre Schleimhaut	12,1	-	2,7
Gingiva	7,4	16,2	8,0
Labial / vestibulär	7,9	-	5,4
Alveolar and labial mucosa	-	12,3	-
Labial sulcus	-	-	0,9
Buccal sulcus	-	-	2,7
Keine Angabe	0,4	2,9	-

Auffällig war, dass sich die Werte der drei Studien zwar teilweise deutlich unterschieden, aber gerade die Werte für die Risikolokalisationen Mundboden, Zungenrand und Zungenunterseite zusammengefasst sehr nahe beieinander lagen: Volmajer = 22,3%, Sciubba = 26,9% [Sciubba 1999], Poate et al. = 34,8 [Poate et al. 2004]. Ebenso lagen die Werte für die als risikoarm geltenden Strukturen Wangenschleimhaut, Alveolarfortsatz und Gaumen dicht beieinander: Volmajer =

53,2%, Sciubba = 45,9% [Sciubba 1999], Poate et al. = 40,1% [Poate et al. 2004]. Die in der vorliegenden Studie besonders häufige Entnahme am harten und weichen Gaumen von 29,9% wurde bei den anderen Untersuchungen mit 7,9% bei Sciubba [Sciubba 1999] und 15,1 bei Poate et al. [Poate et al 2004] nicht in der Anzahl durchgeführt.

Erklärt werden konnten die Werte für die Entnahmestelle in der vorliegenden Studie teilweise durch die Indikation und Kontraindikation zur oralen Bürstenbiopsie (siehe Kap. 2.9.). Es war naheliegend, dass an verdächtigen Läsionen, die in einem Risikoareal lagen, keine Bürstenbiopsie sondern eine Skalpellbiopsie durchgeführt wurde. Zusätzlich wird die Bereitschaft, eine Läsion, die nicht in einer Risikolokalisation liegt, mit diesem nicht-invasiven Verfahren histologisch zu untersuchen, von Behandler und Patient schnell vorgelegen haben, da für den Behandler der Aufwand gering war und die verdächtige Mundschleimhautveränderung des Patienten ohne Anästhesie und invasivem Eingriff untersucht werden konnte. Diese Gründe konnten die Ursache dargestellt haben, dass in der vorliegenden Studie viele Entnahmestellen nicht den typischen Risikoarealen für ein Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle entsprachen. Auffällig war, dass bei 176 Abstrichen insgesamt 215 Lokalisationen angegeben wurden. Diese Mehrfachnennungen der Lokalisation wurden in Tab. 3 (siehe Kap. 5 – Ergebnisse) aufgezeigt. Auffällig waren diese Mehrfachnennungen vor allem, weil in vielen Fällen keine anatomische Nähe der Strukturen auszumachen war (z.B. harter Gaumen + Planum buccale + alveoläre Schleimhaut). So lag die Vermutung nahe, dass es Unklarheiten über die Benennung dieser Strukturen gab oder die Begleitscheine von nicht ausreichend qualifiziertem Personal ausgefüllt wurden. Einige Mehrfachnennungen erschienen aber möglich, da verdächtige Läsionen an einem anatomischen Übergang (z.B. harter und weicher Gaumen) existieren konnten. Im Falle einer großen Läsion, die tatsächlich mehrere Strukturen bedeckte, war es sinnvoll, sich auf eine Stelle zu konzentrieren oder gleich mehrere Bürstenbiopsien von verschiedenen Stellen derselben Läsion vorzunehmen. Für jeden Bürstenabstrich musste dann jeweils ein Begleitschein ausgefüllt werden.

#### *Farbe der verdächtigen Läsion*

Bei dem Farbbefund auf dem Begleitschein gab es in 176 Fällen insgesamt 206 Angaben. Tabelle 5 (siehe Kap. 5 – Ergebnisse) zeigt detailliert, wie sich diese

Mehrfachnennungen aufteilen ließen. Von den 206 Angaben bezogen sich 145 auf nur eine mögliche Nennung, dies entsprach 70,4%. In 30 Fällen wurden insgesamt 61 Nennungen gemacht, was 29,6% betrug. Insgesamt imponierte, dass die weißen und gemischt farbigen Läsionen deutlich überwogen. Auffällig bei den Mehrfachnennungen war die hohe Zahl an Ulzerationen (27 von 30). Das Ulkus wird definiert als Verlust der epithelialen Schichtung von Haut oder Schleimhaut mit in die Tiefe gehendem Substanzverlust [Laskaris 2006], weist eine lokale Entzündung auf und gilt als Sonderform der nekrotisierenden Entzündung [Reuter 2004]. Bei einer Entzündung kommt es zu Hyperämie durch Dilatation der Gefäße und somit zur Rötung des entzündeten und umliegenden Gewebes. Es treten ausgeprägte Zell- und Gewebeveränderungen auf [Junqueira 2005], aufgrund dessen man davon ausgehen kann, dass sich in jedem entzündetem Gebiet auch atypische Zellen finden lassen. Das Ulkuszentrum ist eine Kontraindikation für die Entnahme einer Bürstenbiopsie (vgl. Kap. 2.9), da sich dort keine Epithelschichten finden lassen [Horch 2007]. Somit haben die Behandler die Bürstenbiopsie am Rand des Ulkus, der noch Epithel aufweist, entnommen, da sonst das Zellmaterial nicht ausreichend gewesen wäre. Weiße Veränderungen an der Mundschleimhaut werden meist durch Hyperkeratosen hervorgerufen [Reichart et al. 1999] und können als Präkanzerose (z.B. Leukoplakie) oder präkanzeröse Bedingung (z.B. Lichen planus) eine Vorläuferläsion für ein orales Plattenepithel sein (vgl. Kap. 2). Auch diese Zellen sind atypisch verändert, so dass sie in der Bildzytometrie einen positiven Befund bewirken.

Die Studiengruppe um Kosicki [Kosicki et al. 2007] wies mittels Oral CDx Bürstenbiopsie bei sechs Patienten eine Dysplasie oder ein Karzinom und bei 14 atypische Zellen nach. Die Farbe der Veränderung war bei den positiven Befunden fünfmal weiß und einmal rot, während sie bei denen mit atypischen Zellen achtmal weiß, viermal gemischt und zweimal rot war. In dieser Studie waren also von 20 Befunden insgesamt 13 weiß (65%), vier gemischt (20%) und drei rot (15%). Mehrfachnennungen gab es in dieser Studie nicht und Ulzerationen wurden nicht genannt.

Die Studie von Poate et al. [Poate et al. 2004] beschrieb 112 verdächtige Läsionen, die mit der Bürstenbiopsie untersucht worden sind, 71 als weiß, 8 als rot, 31 als gemischt und 2 als mukosafarbig.

Insgesamt stellten in den verschiedenen hier beschriebenen Studien weiße Läsionen den größten Anteil dar, gefolgt von den gemischt farbigen und den roten Läsionen.

### *Symptome*

In der vorliegenden Studie wurden von den Behandlern bei den 178 Untersuchten 189 Angaben zu Symptomen dokumentiert. 50,5% der Patienten waren symptomlos, 20% gaben Schmerzen an, 15,3% Blutungen und bei 14,2% erfolgte keine Angabe. Bei den insgesamt 14 Mehrfachnennungen wurde 13 mal die Kombination „Schmerz und Blutung“ angegeben. Diese Kombination ist medizinisch sinnvoll und nachzuvollziehen. Die Kombination „keine Symptome und Blutung“, die einmal angegeben wurde, ist hingegen inkorrekt, da das Symptom Blutung vorlag. Tabelle 13 stellt die Werte für die Symptome mit denen anderer Studien gegenüber.

In der Studie von Poate et al. wurden die von den Patienten angegebenen Symptome wie folgt beschrieben (n= 112): 84 hatten keine Symptome (75%) und 25 gaben Schmerz an (22,3%). In einem Fall kam es zur Blutung (0,9%) und in 2 Fällen erfolgte keine Spezifizierung (1,8%) [Poate et al. 2004].

Christian untersuchte 93 Patienten und es zeigte sich bei 94,6% von ihnen kein Symptom, bei 2,2% Schmerzen, in keinem Fall Blutungen und bei 3,2% erfolgte keine genauere Spezifizierung [Christian 2002].

Von 945 untersuchten Fällen hatten in der Studie von Sciubba 62,9% der Patienten keine Symptome, 31,6% gaben Schmerzen an, 2,3% Blutungen und bei 3,2% erfolgte keine Spezifizierung [Sciubba 1999].

Im Vergleich zu anderen Veröffentlichungen konnte die vorliegende Studie in etwa dieselbe Tendenz bei der Verteilung der Symptome aufweisen, auch wenn die Werte teils stark variierten. In allen hier genannten Studien gab der Großteil der Patienten an, keine Symptome zu verspüren. Danach folgte die Gruppe der Patienten, die Schmerzen angaben, und zuletzt die, die Blutungen aufwiesen. Es stellte sich die Fragen, warum mit 14,2% in der vorliegenden Studie der Wert für „keine Angaben“ relativ groß war. Es bestand die Möglichkeit, dass Patient und Behandler bei dieser subjektiven Angabe unsicher waren, oder dass eine Kontrollbiopsie ohne ausführlichen erneuten Befund durchgeführt worden ist.

Tab. 13: Darstellung der Symptome in Prozent zum Zeitpunkt der Bürstenbiopsie aus verschiedenen Studien [Sciubba 1999, Christian 2002, Poate et al. 2004]:

	Volmajer [2011]	Sciubba [1999]	Christian [2002]	Poate et al. [2004]
Gesamtzahl (n)	189	945	93	112
Keine Symptome	50,5	62,9	94,6	75,0
Schmerzen	20,0	31,6	2,2	22,3
Blutung	15,3	2,3	0	0,9
Keine Angabe	14,2	-	-	-
Not specified	-	3,2	3,2	1,8

### *Erscheinungsbild*

In der vorliegenden Studie wurden bei 176 Bürstenbiopsien insgesamt 192 Angaben zum Erscheinungsbild bei der klinischen Untersuchung gemacht. Die prozentuale Verteilung war ausgeglichen mit 36,9% für flache Erscheinungen, 34,4% für plaqueartig und 20,3% für verrukös. In 8,4% der Fälle erfolgte keine Angabe.

Die Mehrfachnennungen konnten wie folgt verifiziert werden: 14 mal wurde flach und plaqueartig angegeben, 5 mal plaqueartig und verrukös, einmal flach und verrukös und einmal verrukös und keine Angabe. Hierbei konnte festgehalten werden, dass die Kombinationen flach und verrukös, sowie verrukös und keine Angabe sich widersprachen. Die Kombinationen flach und plaqueartig sowie plaqueartig und verrukös konnten aus der klinischen Betrachtung her für den Behandler möglich sein. Plaque wird hierbei als plattenartige Erhabenheit der Schleimhaut und verrukös als warzenartig definiert [Reuter 2004].

Tabelle 14 vergleicht die hier gewonnenen Werte mit denen anderer Studien. Auch hierbei konnte dieselbe Tendenz beobachtet werden. In allen hier genannten Studien war die Gruppe der flachen Veränderungen die größte, teilweise dicht gefolgt von den plaqueartigen Läsionen. Die verrukös imponierenden Läsionen bildeten bei allen vier Autoren die kleinste Gruppe, wobei deren Werte in der vorliegenden Studie deutlich größer waren als in den anderen. Allein durch die Mehrfachnennungen



(verrukös wurde dort insgesamt 7mal aufgeführt) ist dies nicht zu erklären. Die Vermutung lag nahe, dass viele Behandler ein verruköses Erscheinungsbild mit einem möglichem exophytischem Tumorwachstum in Verbindung brachten und so zu einer nicht invasiven Kontrolle durch die Bürstenbiopsie bereit waren. Die Gruppe der flachen Erscheinungen konnte eventuell jeweils die größte sein, weil viele Präkanzerosen (v.a. Leukoplakie und Erythroplakie) und präkanzeröse Bedingungen ebenfalls flach imponieren. Für die Behandler könnte dies ein Grund gewesen sein, sich für eine Bürstenbiopsie zu entscheiden.

Tab. 14: Vergleich des Erscheinungsbildes in Prozent mit den Daten aus anderen Studien [Sciubba 1999, Christian 2002, Poate et al. 2004]:

	Volmajer [2011]	Sciubba [1999]	Christian [2002]	Poate et al. [2004]
Gesamtzahl (n)	192	945	93	112
Flach	36,9	44,1	71,0	47,3
Plaquetartig	34,4	32,8	21,5	43,8
Verrukös	20,3	6,3	3,2	8,0
Keine Angabe	8,4	-	-	-
Not specified	-	16,8	4,3	0,9

#### *Dauer des Bestehens der Veränderung*

Die Dauer des Bestehens der Veränderung war in den meisten Fällen unbekannt (38,5%). In 27,7% der Fälle bestand die Läsion 6 Monate oder weniger, in 9,0% zwischen 6 und 12 Monate und in 15,2% bestand sie länger als ein Jahr. In 9,6% der Fälle wurde zur Dauer keine Angabe auf dem Befundbogen gemacht.

Die hohe Anzahl an Patienten, denen die Bestehensdauer der verdächtigen Läsion unbekannt war, ließ sich daraus erklären, dass in der vorliegenden Studie 50,5% der Patienten keine Symptome verspürten und das klinische Erscheinungsbild in 36,9% der Läsionen flach war. Mit insgesamt 36,7% lag die Gruppe der Läsionen, die höchstens 6 Monate und 6 bis 12 Monate bestanden, an zweiter Stelle. Hier konnte man vermuten, dass Patienten einmal jährlich einen Zahnarzt aufsuchten,

Bonussysteme der gesetzlichen Krankenkassen könnten hier für den Patienten ausschlaggebend gewesen sein (Bonusheft). Der Medianwert des Alters der Patienten in dieser Studie betrug 64 Jahre. Patienten in diesem Alter tragen häufig einen Zahnersatz, der regelmäßig kontrolliert und evtl. überbearbeitet werden muss. Dies könnten Gründe für die häufige, relativ zeitnahe Entdeckung verdächtiger Läsionen bei Symptombefreiheit sein. Voraussetzung dafür war, dass ein ausführlicher Mundschleimhautbefund durchgeführt wurde.

Poate et al. beschrieben die Bestehensdauer der Läsionen in ihrer Studie bei n = 112 Patienten wie folgt [Poate et al. 2004]: 21,4% ≤ 6 Monate, 13,4% 6 bis 12 Monate, 34,8% mehr als ein Jahr und 30,4% gaben einen unbekanntem Zeitraum an. Diese prozentualen Werte beider Studien lagen bei den Angaben ≤ 6 Monate, 6-12 Monate und unbekanntem Dauer sehr dicht zusammen. Nur bei den Läsionen, die länger als ein Jahr bestehen, waren die Werte bei Poate et al. fast doppelt so hoch. Eine Erklärung könnte in einem eher abwartenden und zurückhaltenden Agieren der Behandler liegen, welches jedoch bei der nicht invasiven Bürstenbiopsie keine Vorteile bringt.

### *Tabakkonsum*

In der vorliegenden Studie gaben 61,9% der Patienten an, Nichtraucher zu sein. 8% machten keine Angaben, 30,1% waren Raucher. Es handelte sich um 53 Personen, von denen 3 zusätzlich zu Zigaretten Pfeife und 1 Patient zusätzlich Pfeife und Zigarren rauchte. Je eine Person gab an, Haschisch bzw. Kautabak zu konsumieren. Sciubba beobachtete, dass 63% seiner Patienten Nichtraucher waren und 37% Raucher (33% der Raucher ≥ 1 Packung pro Tag, 4% der Raucher < 1 Packung / Tag). 7% der Raucher gaben zusätzlich einen weiteren Tabakkonsum an (Pfeife, Schnupftabak, Zigarren) [Sciubba 1999].

In der Studie von Poate et al. waren 58% der Patienten Nichtraucher und 42% Raucher (17% > 20 Zigaretten / Tag, 25% < 20 Zigaretten / Tag). 6 Patienten gaben zusätzlich an, Pfeife zu rauchen und 5 nutzten zusätzlich Schnupftabak [Poate et al. 2004].

Christian beschrieb, dass 92,1% der Patienten nicht rauchten und 7,9% weniger als eine Packung pro Tag rauchten (Packungsgröße nicht angegeben). Keiner rauchte mehr als eine Packung oder konsumierte andere Tabakwaren [Christian 2002].

Kosicki et al. konnten zeigen, dass von den 20 Patienten mit positiven Oral CDx Befund (6 positiv für Dysplasie oder Karzinom, 14 mit Vorhandensein von atypischen Zellen) 12 Raucher (seltenes Zigarrrauchen bis 60 Zigaretten pro Tag) und 8 Nichtraucher waren [Kosicki et al. 2007].

Somit war in allen hier genannten Studien die Gruppe der Patienten, die Nichtraucher waren, größer als die der Raucher. Raucher haben ein höheres Risiko für Verhornungsstörungen der Mundschleimhaut. Bei ihnen können Veränderungen in der Mundhöhle regelmäßig auftreten, wobei die Ursache hierfür, nämlich der Tabakkonsum, bekannt ist. Bei Nichtrauchern ist die Gefahr einer malignen Transformation beim Vorliegen einer Leukoplakie höher (z.B. idiopathische Form). In der Regel würde eine histopathologische Untersuchung eher frühzeitig angeordnet werden. Es könnte aber auch sein, dass verdächtige Läsionen bei Rauchern eher mit einer Skalpellbiopsie als mit einer Bürstenbiopsie weiterführend untersucht wurden, was jedoch retrospektiv nicht geklärt werden konnte.

### *Behandler*

Die Bürstenbiopsien wurden von insgesamt 135 verschiedenen Zahnärzten und Oralchirurgen in Deutschland durchgeführt, deren Kenntnisse auf dem Gebiet der Oralmedizin nicht eindeutig zuzuordnen waren. In den meisten anderen Studien war die Anzahl der Behandler gering und fast alle waren Spezialisten auf dem Gebiet der Oralmedizin [Sciubba 1999, Christian 2002, Svirsky et al. 2002, Poate et al. 2004, Scheifele et al. 2004, Kosicki et al. 2007]. So konnte man davon ausgehen, dass in dieser Studie ein aktuelles, repräsentatives Ergebnis für den klinischen Alltag wiedergegeben wurde. Es bleibt die Frage offen, ob die Bürstenbiopsie an einer adäquaten Stelle der verdächtigen Läsion entnommen und ob die enge Indikation eingehalten wurde. In 60 der 176 Fälle wurde der Begleitschein nicht vollständig ausgefüllt (eine oder mehrere Angaben wurden ausgelassen), was sich in der Ergebnisdarstellung als „keine Angabe“ widerspiegelte. Gerade diese Angaben waren für den Pathologen zur Einordnung des Ergebnisses von großer Bedeutung.

Von 176 Patienten, bei denen auf Grund der Bürstenbiopsie ein positiver Befund vorlag, wurde nur bei 106 eine Exzisionsbiopsie durchgeführt, obwohl die Therapieempfehlung der Pathologen eine Skalpellbiopsie vorsah. Bei 70 Patienten erfolgte dieser Schritt also nicht, was im Falle eines Karzinoms oder einer Dysplasie für den Patienten schwerwiegende Folgen hätte. Eine gute Aufklärung der Patienten,

sofortige Überweisung an einen Spezialisten und die enge interkollegiale Zusammenarbeit muss erfolgen, damit die Weiterbehandlung schnell und sicher erfolgen kann.

### *Sonstige Befunde*

Als sonstiger Befund wurden unter anderem Leukoplakien und lichenoiden Reaktionen genannt. Diese können dysplastisch sein, könnten also auch zu den Dysplasien gezählt werden. Sie wurden nicht in die Ergebnisse integriert, da eine Heterogenität der Pathologen in dieser Studie vorlag, und nicht sicher gesagt werden konnte, dass in allen Fällen die gleichen Maßstäbe gesetzt wurden. Die Bürstenbiopsien wurden alle in dem gleichen pathologischen Labor ausgewertet (Pathologie-Praxis Reutlingen, Prof. Dr. med. A. Burkhardt, Obere Wässere 3-7, 72764 Reutlingen), die erfolgten Exzisionsbiopsien wurden in unterschiedlichen pathologischen Laboratorien ausgewertet.

### *Verwendete Methodik*

Die an die Behandler versendeten Follow-up Fragebögen (Abbildung 6, Kap. 10 - Anhang) wurden in 72,4% der Fälle beantwortet und zurück gesendet (176 von 243). Durch die Zusendung von je 2 Oral CDx Test Kits sollte für die Behandler ein Anreiz zur Bearbeitung der Bögen geschaffen werden, um eine möglichst große Rückmeldungsrate zu erzielen.

Die Gefahr, die durch nicht beantwortete und somit nicht berücksichtigte Antwortbögen bestand, ist eine Verzerrung des Gesamtergebnisses, was die Repräsentativität herabsetzt. Dies geschieht dadurch, dass die Interviewteilnehmer eventuell anders antworten, als es die Nicht-Teilnehmer getan hätten [Armstrong 1977]. Diese sogenannte Schweigeverzerrung (non-response bias) kann durch gezieltes Nachfragen über die Gründe der Nichtteilnahme an der Befragung oder durch mehrmaliges Vorlegen der Fragebögen erreicht werden. Dies ist in der vorliegenden Studie nicht geschehen. In seinem Bericht beschrieb Babbie, dass für eine adäquate Analyse von veröffentlichten sozialen Recherchen eine Rückmeldungsrate von mindestens 50% erfolgen muss [Babbie 2007]. Er beschrieb, dass eine Rate von 60% als gut und 70% als sehr gut angesehen wird. Singleton et al. beschrieben hingegen, dass eine Rückmeldungsrate von 85% erfolgen sollte und dass eine Rate von unter 70% eine ernsthafte Möglichkeit für Verzerrungen darstellt

[Singleton et al. 2005]. Die Rate von 72,4% der hier vorliegenden Studie hat die oben genannten Richtwerte erreicht. Eine Erhöhung der Rate durch mehrmaliges Zusenden der Follow-up Bögen hätte zusätzlich erfolgen können.

#### *Abrechnung nach BEMA*

Eine orale Bürstenbiopsie mit Bildzytometrie kann bei gesetzlich versicherten Patienten über die BEMA Position 05 einmal in 12 Monaten abgerechnet werden, wenn bereits eine Leukoplakie oder ein Lichen planus vorliegt. Bei allen anderen Veränderungen, die nicht diese Diagnose aufweisen oder bei Kontroll-Biopsien in kürzerem Abstand, muss die Bürstenbiopsie den Patienten privat in Rechnung gestellt werden. Darin besteht die Gefahr, dass Bürstenbiopsien seltener durchgeführt werden. Eine ausführliche Aufklärung des Patienten muss erfolgen, um die Kosten-Nutzen-Relation zugunsten der histopathologischen Abklärung mittels Bürstenbiopsie darzustellen.

Anhand eines Fallberichtes beschrieben Moralis et al., dass die von ihnen sogenannte methodisch erweiterte Bürstenbiopsie ein Hilfsmittel bei der Überwachung von Patienten im Rahmen der Tumornachsorge darstellte. Sie konnte als erster oder ergänzender diagnostischer Schritt bei klinisch nicht eindeutigen malignen, oralen Veränderungen, insbesondere bei großflächigen Mundschleimhautläsionen, sinnvoll sein [Moralis et al. 2007]. Dabei wurde von den Autoren aufgrund einer großflächigen und unregelmäßig aufgeworfenen Läsion am linken Zungengrund und Zungenrand neben einer Inzisionsbiopsie an der stärksten auffälligen Region zusätzlich eine Bürstenbiopsie über die gesamte Läsion durchgeführt. Der Patient wurde 2 Jahre zuvor aufgrund eines ausgedehnten Plattenepithelkarzinoms chirurgisch und mit postoperativer Radiatio therapiert. Es lag der Verdacht auf ein Rezidiv vor, welches allein durch die Inzisionsbiopsie nicht bestätigt werden konnte. Erst durch die Bürstenbiopsie wurde in diesem Fall das Vorhandensein von atypischen Zellen aufgedeckt, was zur Wiederholung der Skalpellbiopsie und somit zur sicheren Auffindung des Rezidivs führte. Eine Kombination der verschiedenen Diagnoseverfahren hat sich in diesem Fallbericht zum Wohle des Patienten als erfolgreich dargestellt.

In der vorliegenden Studie wurden bei 11 Personen Karzinome und bei 29 Personen Dysplasien entdeckt, die ohne eine Bürstenbiopsie möglicherweise nicht erkannt bzw. übersehen worden wären.

## 7. Schlussfolgerung

Diese retrospektive Studie, bei der aus 106 Patientenfällen 11% Karzinome sowie 15% mittelgradige bis schwere Dysplasien erkannt wurden, bestätigte den Wert der oralen Bürstenbiopsie mit Bildanalyse und histologischer Blockauswertung für die Abklärung verdächtiger Mundschleimhautläsionen, wobei die Kategorie „positiv“ einen hohen Vorhersagewert hat und die Kategorie „atypisch“ auch einige reaktive, aber in der Regel abklärungsbedürftige Läsionen erfasste. Besonders unter dem Aspekt, dass Läsionen untersucht wurden, die klinisch als benigne eingestuft worden sind, wurde der Nutzen gerechtfertigt, da diese Veränderungen sonst meist nur beobachtet worden wären, was eine Verschlechterung der Gesamtsituation durch Tumorwachstum bedeutet hätte.

Modifikationen am Begleitschein, der vom Untersucher auszufüllen ist, können ebenfalls helfen, die Bürstenbiopsie mit Bildzytometrie zu verbessern. Dort könnten Angaben zum Alkoholkonsum des Patienten zu vermerken sein, um diesen Risikofaktor (vor allem in Kombination mit Tabakkonsum) zu berücksichtigen. Bei Vorhandensein eines Ulkus sollten die Behandler darauf hingewiesen werden, die Bürstenbiopsie am Rand des Ulcus zu entnehmen und nicht im Zentrum. Dieser Hinweis ist in der Oral CDx Gebrauchsanweisung nicht beschrieben worden (siehe Abb. 7 und 8, Kap. 10 - Anhang).

Es wäre sinnvoll, die Richtlinien der gesetzlichen Krankenkassen zur BEMA Position 05 („Eine orale Bürstenbiopsie kann bei gesetzlich Versicherten Patienten über die BEMA Position 05 einmal in 12 Monaten abgerechnet werden, aber nur, wenn bereits eine Leukoplakie oder ein Lichen planus vorliegt.“) zu überarbeiten, um die schnelle und regelmäßige Kontrolle von verdächtigen Läsionen auch ohne Zuzahlung durch den Patienten zu gewährleisten. Früh diagnostizierte Läsionen können für den Patienten weniger invasiv und für die Krankenkassen kostengünstiger therapiert werden, als fortgeschrittene.

Ziel muss weiterhin sein, die Behandler und Patienten für das Thema des oralen Plattenepithelkarzinoms zu sensibilisieren, um die hohe Rate an spät entdeckten, bereits sich im fortgeschrittenen Stadium befindlichen Tumoren zu senken. Dabei

können Modifikationen in der Vorgehensweise der diagnostischen Untersuchung für einige Patientenfälle sinnvoll sein [Moralis et al. 2007]. Die Kombination von Skalpell- und Bürstenbiopsie bei ausgedehnten Läsionen oder bei möglichen Rezidiven ist hierbei eine mögliche Variante. Des Weiteren sollten Behandler und Patient verstärkt darauf sensibilisiert werden, dass persistierende Läsionen auch bei negativem Ergebnis der Bürstenzytologie regelmäßige Kontrolluntersuchungen benötigen, da das Ergebnis eine Momentaufnahme eines sich ständig verändernden Prozesses darstellt.



## 8. Zusammenfassung

### 8.1. Zusammenfassung

Das Plattenepithel der Mundhöhle gehört zu den zehn häufigsten Krebsarten weltweit. Selbst mit der Weiterentwicklung moderner chirurgischer Verfahren sowie der Anwendung von Strahlen- und Chemotherapie, konnte die Fünfjahresüberlebensrate nicht deutlich verbessert werden, so dass immer noch annähernd 50% der erkrankten Patienten in diesem Zeitraum versterben.

Ziel dieser retrospektiven Studie war es, den klinischen Verlauf von Patienten zu untersuchen, bei denen eine Oral CDx Bürstenzytologie bei Mundschleimhautveränderungen durchgeführt wurde, die klinisch vom Untersucher als benigne eingestuft wurden und daher a priori nicht einer Biopsie zugeführt worden wären. Gleichzeitig wiesen diese Veränderungen einen Oral CDx Befund als atypisch oder positiv für Dysplasie / Karzinom auf.

Für die vorliegende Studie wurden die Daten aller Patienten gesammelt, bei denen im Zeitraum 01.01.2003 bis 30.09.2006 in Deutschland eine primär klinisch nicht malignitätsverdächtige Läsion mittels Oral CDx Bürstenbiopsie untersucht wurde. In Deutschland werden alle OralCDx Bürstenzytometrien von demselben pathologischen Institut, dem CDx®-Labor in Reutlingen (Pathologie-Praxis Reutlingen, Prof. Dr. med. A. Burkhardt, Obere Wässere 3-7, 72764 Reutlingen, Deutschland) ausgewertet. Die Patientendaten konnten von diesem Labor gewonnen werden. Es handelt sich insgesamt um n = 243 Befunde. Von ihnen waren 13 positiv für ein Karzinom oder eine Dysplasie, 230 wiesen atypische Zellen auf. Von den 243 Fragebögen wurden 176 von den Behandlern ausgefüllt und zurück gesendet (davon wiesen 8 Patienten ein positives und 168 ein atypisches Oral CDx-Ergebnis auf).

Der Medianwert des Alters der Patienten zum Zeitpunkt der Bürstenbiopsie betrug 64 Jahre (Frauen 66 Jahre; Männer 63 Jahre). Von den 176 Patienten waren 49% Frauen und 51% Männer (Frauen n = 87, Männer n = 89). Von den 176 Patienten wurde in 106 Fällen (davon 6 positiv und 100 atypisch) nach Erhalt des Ergebnisses der Bürstenbiopsie eine Gewebeprobe durchgeführt. Die Ergebnisse ergaben in 11 Fällen ein Karzinom und in 29 Fällen eine Dysplasie (schwer 4, mittelgradig 13, gering 12). Diese Veränderungen wurden in Läsionen entdeckt, die klinisch als benigne eingestuft worden sind und an denen keine Skalpellbiopsie durchgeführt

worden wäre. 27 Fälle ergaben eine Entzündung, 12 einen oralen Lichen planus, 22 eine sonstige Veränderung und 5 Fälle waren negativ. Der falsch-positive Vorhersagewert lag bei 5,3%.

Aufgrund der vorliegenden Daten konnte der Wert der oralen Bürstenbiopsie mit Computer-assistierter Bildanalyse und histologischer Auswertung als einfaches und verlässliches Diagnoseverfahren bestätigt werden, um klinisch suspekten Mundschleimhautläsionen frühzeitig als Präkanzerose oder Plattenepithelkarzinom zu erkennen.

## 8.2. Summary

Oral squamous cell carcinoma belongs to the 10 most common malignancies in the world. Even with the development of modern surgical methods and the use of radio- and chemotherapy, the five-year survival rate has not been improved. About 50% of the affected patients die during that period. The aim of this retrospective study was to examine the clinical course of patients, who received an Oral CDx brush biopsy in a clinically benign appearing lesion of the oral mucosa, and whose Oral CDx finding was classified as atypical or positive for dysplasia / carcinoma.

For this study, patient data were collected from patients receiving Oral CDx brush biopsy for a primary clinical non-malignant appearing lesion from January 1st, 2003 to September 30th, 2006. In Germany, all Oral CDx specimens are analyzed at the same laboratory (Pathologie-Praxis Reutlingen, Prof. Dr. med. A. Burkhardt, Obere Wässere 3-7, 72764 Reutlingen, Germany).

All findings classified as “atypical cells” and “positive for dysplasia or carcinoma” were included (n = 243 findings). Thirteen of these were positive for dysplasia or carcinoma and in 230 cases atypical cells were revealed. From the 243 disease-specific questionnaires, 176 have been sent back from the dentists (including 8 patients with positive results, and 168 with atypical cells). The median age of the patients at the time of brush biopsy was 64 years (female 66 years, male 63 years). Of these patients, 49% were female (n = 87) and 51% male (n = 89). In 106 cases (including 6 patients with a positive result and 100 with atypical cells) a scalpel biopsy had been performed after brush biopsy. Eleven were diagnosed as oral squamous cell carcinoma, 29 as oral epithelial dysplasia (4 severe, 13 moderate, 12 mild). These malignancies were found in clinically appearing benign oral lesions and

would otherwise not have been examined histological. In 27 cases inflammation was present, in 12 oral lichen planus, in 22 other benign mucosal diseases and 5 cases were negative. Additionally, 5% of the Oral CDx brush biopsies were false-positive.

This retrospective study approved the significance of the oral brush biopsy with computer assisted image analysis and histological analysis as an easy and reliable diagnostical tool to identify clinically suspicious lesion of the oral mucosa as precursor lesion or oral squamous cell carcinoma at an early stage.

## 9. Literaturverzeichnis

1. AWMF: Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften: AWMF-Register Nr. 007/092: S2k-Leitlinie: Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Stand: 01.03.2010 (2010).
2. Armstrong JS and Overton TS: Estimating Nonresponse Bias in Mail Surveys. In: Journal of Marketing Research. 14, 1977, S. 396–402 (1977).
3. Axèll T, Pindborg JJ, Smith CJ et al.: Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco- related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. J Oral Pathol Med. 25:49-54 (1996).
4. Babbie E: The practice of social research. 11<sup>th</sup> ed. Belmont, CA: Wadsworth (2007).
5. Barnes L, Eveson JW, Reichart PA, et al.: World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and genetics of tumors of the head and neck. IARC, Lyon in press (2005).
6. Batsakis JG: Clinical pathology of oral cancer. In "Oral Cancer" (JP Shah, NW Johnsson and JG Batsakis, Eds.), pp77-130. Martin Dunitz, London (2003).
7. Berg J, Aase S, Soland T, et al.: The value of cytology in the diagnostics of lung cancer. APMIS 113: 208-212 (2005).
8. Bertz J, Hentschel S, Hundsdörfer G, et al.: Krebs in Deutschland. Häufigkeiten und Trends. Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland, Saarbrücken (2004).

9. Betz V, Schneckenburger H, Alleroder HP, et al.: Evaluation of changes in the NADH level between carcinogenic and normal tissue samples by use of fluorescence spectroscopy. *Pro SPIE* 2324: 284-291 (1994).
10. Bhoopathi V, Kabani S, Mascarenhas AK: Low positive Predictive Value of the Oral Brush Biopsy in Detecting Dysplastic Oral Lesions. *Cancer* Mar 1:115(5) 1036-40 (2009).
11. Bienengraber V, Stubbe M, Stender I: Stellenwert der oralen Exfoliativzytologie bei der Diagnostik maligner und präkanzeröser Schleimhautveränderungen. *Stomatol DDR*: 12-18 (1986).
12. Blot WJ, MacLaughlin JK, Winn DM et al.: Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Research* 48(11): 3282-7 (1988).
13. Braakhuis BJ, Tabor MP, Leemans CR et al.: Second primary tumors and field cancerization in oral and oropharyngeal cancer: molecular techniques provide new insights and definitions. *Head Neck* 24(2): 198-206 (2002).
14. Burkhardt A: Die Bürstenbiopsie Grundlagen und Ergebnisse einer neuen Methode zur Abklärung von Mundschleimhautläsionen Teil1. *ZKN Mitteilungen* 9, 562-565 (2006).
15. Chiesa F, Tradati N, Mauri S et al.: Prognostic factors in head and neck oncology: a critical appraisal for use in clinical practice. *Anticancer Res.* 18:4769-4776 (1998).
16. Christian DC: Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oral cancer screening program. *JADA*, Vol. 133, 357-362 (2002).
17. Dabelsteen E, Roed-Petersen B, Smith CJ et al.: The limitations of exfoliative cytology for the Detection of epithelial atypia in oral leukoplakias. *Br J Cancer* 25(1): 21-24 (1971).

18. Dumbach J, Sitzmann F, Pesch HJ: Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Malignom der Mundhöhle unter besonderer Berücksichtigung der Exfoliativ-Zytologie. Dtsch Zahnärztl Z 36: 697-700 (1981).
19. Dunsche A, Härle F: Die Krebsvorstufen der Mundschleimhaut – eine Übersicht. Laryngo Rhino Otol 79: 423-427 (2000).
20. Driemel O, et al.: Erkennung oraler Risikoläsionen in der zahnärztlichen Praxis. Deutsche Krebshilfe e.V. Broschüre für Zahnärzte (2008).
21. Driemel O, Kunkel M, Hullmann M, et al.: Wertigkeit der konventionellen oralen Bürstenbiopsie. HNO 2; 56: 205-210 (2008).
22. Eisen D, Frist S.: Efficacy of the brush biopsy. J Oral Maxillofac Surg 61: 1237-1239 (2003).
23. Epstein JB, Zhang L, Rossin M: Advances in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. J Can Dent Assoc 68:617-31 (2002).
24. Fedele S: Diagnostic aids in the screening of oral cancer. Head Neck Oncol Jan 30; 1:5 (2009).
25. Folsom TC, White CP, Bromer L et al.: Oral exfoliative study. Review of the literature and report of a three-year study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 33(1):61-74 (1972).
26. Forastiere A, Koch W, Trotti A, et al.: Head and neck cancer. N Eng J Med 27: 1890-1900 (2001).
27. Franceschi S, Talamini R, Barra S et al.: Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy. Cancer Res 50:6502-6507 (1990).

28. Grosse N: Veränderungen der Mundschleimhaut. Ungewöhnliche Krankheitsbilder im Praxisalltag erkennen. Wissen kompakt 4: 2 (2009).
29. Gustafsson L, Ponten J, Zack M et al.: International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control* 8:755-763 (1997).
30. Horch HH (Hrsg.): *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie*. Urban & Fischer, München-Jena (2007).
31. Howald HP, Kainz M: Zentralregister des DÖSAK für Tumoren im Kiefer-Gesichtsbereich, 7. Projektbericht, Zentrales Tumorregister des DÖSAK Gießen, (1996).
32. Hurrelmann K, Klotz T, Haisch J (Hrsg.): *Lehrbuch Prävention und Gesundheitsförderung*. 2. Auflage. Huber-Verlag Bern (2007).
33. IARC (International Agency for Research on Cancer): *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 38: Tobacco Smoking*, Lyon (1986).
34. IARC (International Agency for Research on Cancer): *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 83: Tobacco Smoke and Involuntary Smoking*, Lyon (2004).
35. Jaber MA: Oral epithelial dysplasia in non-users of tobacco and alcohol: an analysis of clinicopathologic characteristics and treatment outcome. *J Oral Sci* 52(1):13-21 (2010).
36. Johnson NW: *Oral Cancer*. FDI World Dental Prsee, London pp 1-44 (1999).
37. Junqueira LC, Carneiro J, Gratzl M (Hrsg.): *Histologie*. 6. Auflage. Springer-Lehrbuch. Springer Verlag Berlin (2005).

38. Klöppel G, Kreipe HH, Remmele W (Hrsg.): Pathologie, Kopf-Hals-Region, Weichgewebstumoren, Haut. Springer Verlag Berlin Heidelberg (2009).
39. Kosicki DM, Riva C, Pajarola GF et al.: Oral CDX brush biopsy – a tool for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma. Schweiz Monatsschr Zahnmed 117(3):222-227 (2007).
40. Kowalski LP, Carvalho AL: Influence of time delay and clinical upstaging in the prognosis of head and neck cancer. Oral oncol 37: 94-98 (2001).
41. Küffer J, Lombardi T: Premalignant lesions of the oral mucosa. A discussion about the place of oral intraepithelial neoplasia (OID), Oral Oncol 38: 125-130 (2002).
42. Laskaris G: Pocket atlas of oral diseases. Thieme, Stuttgart – New York (2005).
43. Leunig A, Rick K, Stepp H, et al.: Photodynamische Diagnostik von Neoplasien der Mundhöhle nach lokaler Applikation von 5-Aminolävulinsäure. Laryngohinootologie 75: 459-464 (1996).
44. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T et al.: Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. Oral Oncol 44:10-22 (2008).
45. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients aged 45 years and under: a descriptive analysis of 116 cases diagnosed in the South East of England from 1990 to 1997. Oral Oncol 39: 106-114 (2003).
46. Mehanna HM, Rattay T, Smith J et al.: Treatment and follow-up of oral dysplasia – a systematic review and meta-analysis. Head Neck. 2009 Dec;31(12):1600-9. Review (2009).



47. Mehrotra R, Singh MK, Pandya S et al.: The use of an oral brush biopsy without computer-assisted analysis in the evaluation of oral lesions: a study of 94 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 106:246-253 (2008).
48. Micheelis W, Heinrich R: Dritte deutsche Mundgesundheitsstudie – DMS III: Ergebnisse, Trends und Problemanalysen auf der Grundlage bevölkerungsrepräsentativer Stichproben in Deutschland 1997. Dt. Ärzte-Verlag, Köln (1999).
49. Moralis A, Kunkel M, Reichert TE et al.: Identification of a recurrent oral squamous cell carcinoma by brush cytology. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 11: 355-358 (2007).
50. Morgenroth K: Mundhöhle, Zähne und Kiefer, Waldeyer-Rachenring, Oro- und Hypopharynx. In: Remmele W (Hrsg.): *Pathologie 2, Ein Lehr- und Nachschlagebuch.* Springer, Berlin-Heidelberg (1984).
51. Morgenroth K: Mundhöhle, Zähne und Kiefer, Waldeyer-Rachenring, Oro- und Hypopharynx. In: Remmele W (Hrsg.): *Pathologie Bd. 2 Verdauungstrakt.* Springer, Berlin-Heidelberg (1996).
52. Navone R, Marsico A, Reale I et al.: Usefulness of oral exfoliative cytology for the diagnosis of oral squamous dysplasia and carcinoma. *Minerva Stomatol* 53(3):77-86 (2004).
53. Neid M, Tannapfel A: Intraepitheliale Plattenepithelneoplasie (WHO 2005). Präkanzeröse Läsion im Kopf-Hals-Bereich. *HNO* 57: 181-188, Springer, Berlin Heidelberg (2009).
54. Nocon M, Roll S, Mittendorf T et al.: Tests auf das Humanpapillomavirus (HPV) in der Zervixkarzinomfrüherkennung. *Z Evid Qual Gesundh wesen* 104:138-142 (2010).

55. Ogden GR, Cowpe JG, Wight AJ: Oral exfoliative cytology: review of methods of assessment. *J Oral Pathol Med* 26, 201-205 (1997).
56. Onofre MA, Sposto MR, Navarro CM: Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ and invasive squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 535-540 (2001).
57. Papanicolaou GN: A New procedure for staining vaginal smears. *Science* 95: 438-439 (1942).
58. Papanicolaou GN: A survey of the actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. *Ann Intern Med* 31: 661-674 (1949).
59. Pape HD: Die Früherkennung der malignen Mundschleimhauttumoren unter besonderer Berücksichtigung der exfoliativen Cytologie, Hanseer, München, S1-135 (1972).
60. Pindborg JJ: Clinical relevance of precancerous lesions of oral mucosa. *Recent Results Cancer Res* 134:9-16 (1994).
61. Poate TW, Buchanan JA, Hodgson TA et al.: An audit of the efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist Oral Medicine unit. *Oral Oncol* 40:829-834 (2005).
62. Poh CF, Zhang L, Anderson DW, et al.: Fluorescence visualization detection of fields alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res* 12: 6716-6722 (2006).
63. Poremba C, Simon R, Boecker W et al.: Molekulare Ursachen der Tumorentstehung. *Der Onkologe* 1999-5:847-858. Springer Verlag, Heidelberg (1999).

64. Potter TJ, Summerlin DJ, Campbell JH: Oral malignancies associated with negative transepithelial brush biopsy. *J Oral Maxillofac Surg* 61:674-677 (2003).
65. Reibel J: Diagnosis of oral cancer. *Dtsch Zahnarztl Z* 307-312 (2000).
66. Reichart PA: Tabak und Mundgesundheit. *Dtsch Zahnarztl Z* 307-312 (2000).
67. Reichart PA: Orale präkanzeröse Konditionen – eine Übersicht. *Mund Kiefer Gesichts Chir* 7:201-207 (2003).
68. Reichart PA, Kirchheim A and Lochte KH: Tobacco and oral health. Questionnaire about knowledge, practices and opinions among dentists in Berlin. *Mund Kiefer Gesichts Chir* 4:45-49 (2000).
69. Reichart PA, Philipsen HP (Hrsg.): *Farbatlanten der Zahnmedizin Band 14 Oralpathologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1999).
70. Reichart PA (Hrsg.): *Curriculum Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, Chirurgie Band 2*, Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin (2002).
71. Reinhard EF, Burkhardt A: Erkrankungen der Mundschleimhaut und der Lippen. In: Horch HH (Hrsg.): *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie*. Urban & Fischer, München-Jena (2007).
72. Remmele W (Hrsg.): *Pathologie, 2 - Verdauungstrakt*, Springer, Berlin Heidelberg (1996).
73. Remmerbach TW: Früherkennung rettet Leben - Möglichkeiten und Grenzen der Bürstenbiopsie. *Oralchirurgie Journal* 3/2010, 14-17. Oemus Media AG, Leipzig (2010).
74. Remmerbach TW: Evaluation der zytologischen Diagnostik und adjuvanter Methoden an Präparaten oraler Bürstenbiopsien zur Sekundärprävention von

- Lippen- und Oropharynxkarzinomen. Habilitationsschrift Universität Leipzig (2005).
75. Remmerbach TW, Böcking A, Schmidt-Westhausen AM: Orale exfoliative Zytologie (Bürstenbiopsie). Ein Beitrag zur Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms. Quintessenz 56, 491-501 (2005).
  76. Remmerbach TW, Weidenbach H, Pomjanski N, et al.: Cytologic and DNA-cytometric early diagnosis of oral cancer. Anal Cell Pathol 22, 211-221 (2001).
  77. Reuter P (Hrsg.): Springer Lexikon Medizin, Springer Verlag Berlin (2004).
  78. Rick GM, Slater L: Oral brush biopsy: the problem of false positives [letter]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 96:252 (2003).
  79. Riede UN, Schäfer HE: Allgemeine und spezielle Pathologie, Thieme-Verlag, Stuttgart; New York (2001).
  80. Robert Koch Institut (RKI): Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends. 7. Ausgabe. Robert Koch Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, (2010).
  81. Sandberg A: The chromosomes in human cancer and leukemia. Elsevier, New York (1990).
  82. Sawaya GF, Brown AD, Washington AE, et al.: Clinical practice. Current approaches to cervical-cancer screening. N Engl J Med 344: 1603-1607 (2001).
  83. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T et al.: The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases. Oral Oncol 40, 824-828 (2004).

84. Schleier V, Berndt A, Dahse R et al.: Experimental 5-aminolevulinic acid-induced photodynamic therapy (ALA-PDT) of oral carcinomas. Procedures in treatment of solid tumors and elucidation of cell death. *Mund Kiefer Gesichtschir* 5:98-104 (2001).
85. Schmidt-Westhausen AM: Mundschleimhautrekrankungen. In: Reichart PA, Hausamen JE, Becker J (Hrsg.): *Curriculum Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten. Chirurgie Band 2*. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin (2002).
86. Schroeder HE: *Orale Strukturbiologie. Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle*. Thieme, Stuttgart-New York (1992).
87. Sciubba JJ: Oral cancer and its detection. History-taking and the diagnostic phase of management, *J Am Dent Assoc* 132 (Suppl.), 12S-18S (2001).
88. Sciubba JJ: Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. US Collaborative OralCDx Study Group. *J Am Dent Assoc* 130: 1445-1457 (1999).
89. Scully C: *Oral and maxillofacial medicine. The basis of diagnosis and treatment*. Wright, Edinburgh (2004).
90. Scully C, Bagan J: Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral Oncol* 45(4-5): 301-8 (2009).
91. Silverman S Jr, Gorsky M, Kaugars GE: Leukoplakia, dysplasia and malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 82:117 (1996).
92. Singleton R and Straits B: *Approaches to Social Research*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Oxford University Press (2005).

- 
93. Statistisches Bundesamt: Gesundheit. Ergebnisse der Todesursachenstatistik für Deutschland ausführliche 4-stellige ICD10-Klassifikation. Wiesbaden (2010).
  94. Sudbo J, Right A: Which putatively premalignant oral lesions become oral cancers? Clinical relevance of early targeting of highrisk individuals. J Oral Pathol Med 32, 63-70 (2003).
  95. Svirsky JA, Burns JC, Carpenter WM et al.: Comparison of computer-assisted brush biopsy results with follow up scalpel biopsy and histology. Gen Dent 50(6):500-503 (2002).
  96. Van der Waal I: Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. Oral Oncol 2009, 45 (4-5) :317-323. Epub 2008Jul 31. (2009).
  97. Weir JC, Davenport WD, Scinner RL: A diagnostic and epidemiologic survey of 15,783 oral lesions, J Am Dent Assoc 115, 439-442 (1987).
  98. Wittekind C: Klassifikation von Tumoren. In: Siewert JR (Hrsg): Chirurgie. Springer, Berlin Heidelberg (2006).
  99. Zenk W, Dietel W, Schleier P, et al.: Visualisierung von Karzinomen der Mundhöhle durch Stimulierung der Synthese von fluoreszierendem Protoporphyrin IX. Mund Kiefer Gesichts Chir 3: 205-209 (1999).

## 10. Anhang

Abb. 1: Entnahmegbürste Oral CDx



Abb. 2: Demonstration zur Anwendung der Entnahmegbürste Oral CDx

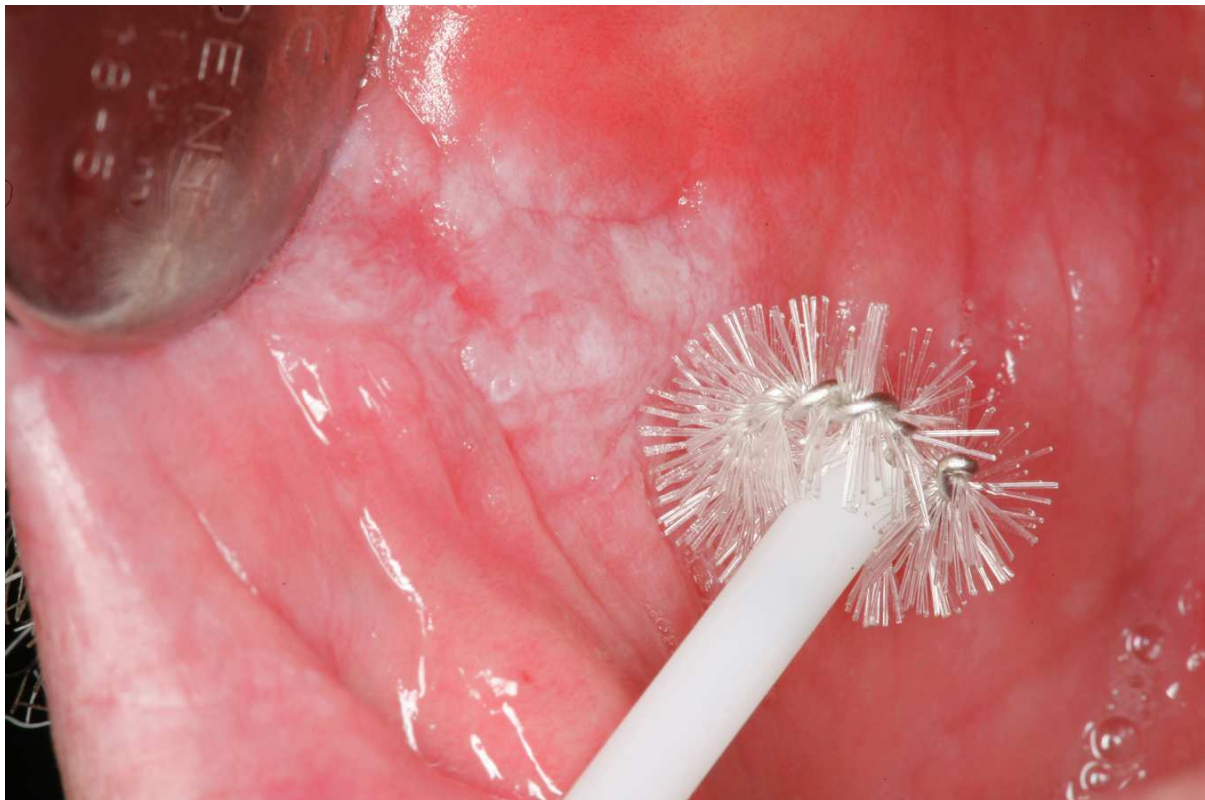


Abb. 3: Begleitschein Oral CDx®

AOK   LKK   BKK   IKK   VdAK   AEV   Knappschaft						
Name, Vorname des Versicherten						Überweisungsschein <input type="checkbox"/>
geb. am.						
Kassen-Nr.		Versicherten-Nr.		Status		Privat <input type="checkbox"/>
Vertragsarzt-Nr.		VK gültig bis		Datum		
MATERIAL (LOKALISATION, ev. Skizze) Jedes Gefäß beschriften <input type="checkbox"/> Mundboden <input type="checkbox"/> Weicher Gaumen <input type="checkbox"/> Zunge lateral <input type="checkbox"/> Planum buccale <input type="checkbox"/> Oropharynx <input type="checkbox"/> Zunge dorsal <input type="checkbox"/> Retromoläres Dreieck <input type="checkbox"/> Alveoläre Schleimhaut <input type="checkbox"/> Gingiva <input type="checkbox"/> Harter Gaumen <input type="checkbox"/> Zunge ventral <input type="checkbox"/> labial/vestibulär						
KLINISCHE DIAGNOSE, DAUER DER KRANKHEIT, THERAPIE (Bestrahlung, Zytostatika, Hormone etc.) Farbe: <input type="checkbox"/> weiss <input type="checkbox"/> rot <input type="checkbox"/> gemischt <input type="checkbox"/> Ulzeration Symptome: <input type="checkbox"/> keine <input type="checkbox"/> Schmerzen <input type="checkbox"/> Blutung Erscheinungsbild: <input type="checkbox"/> flach <input type="checkbox"/> plaquesartig <input type="checkbox"/> verrukös Dauer: <input type="checkbox"/> 6 Monate <input type="checkbox"/> 6 Monate bis 1 Jahr <input type="checkbox"/> > 1 Jahr <input type="checkbox"/> unbekannt Raucher: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> Anzahl pro Tag..... <input type="checkbox"/> Zigaretten .....pro Tag <input type="checkbox"/> Pfeife <input type="checkbox"/> sonstiges						
EINSENDER: Krankenhaus/Station/Arzt Stempel				Frühere Untersuchungen: Reutlingen                      Anderswo: Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		
BEKANNTE NUMMERN UND JAHRGANG (Angabe des Institutes)						

Abb. 4: Diagnostisches Vorgehen bei verdächtigen und unklaren Mundschleimhautläsionen unter Einbeziehung der Bürstenbiopsie [Horch 2007].

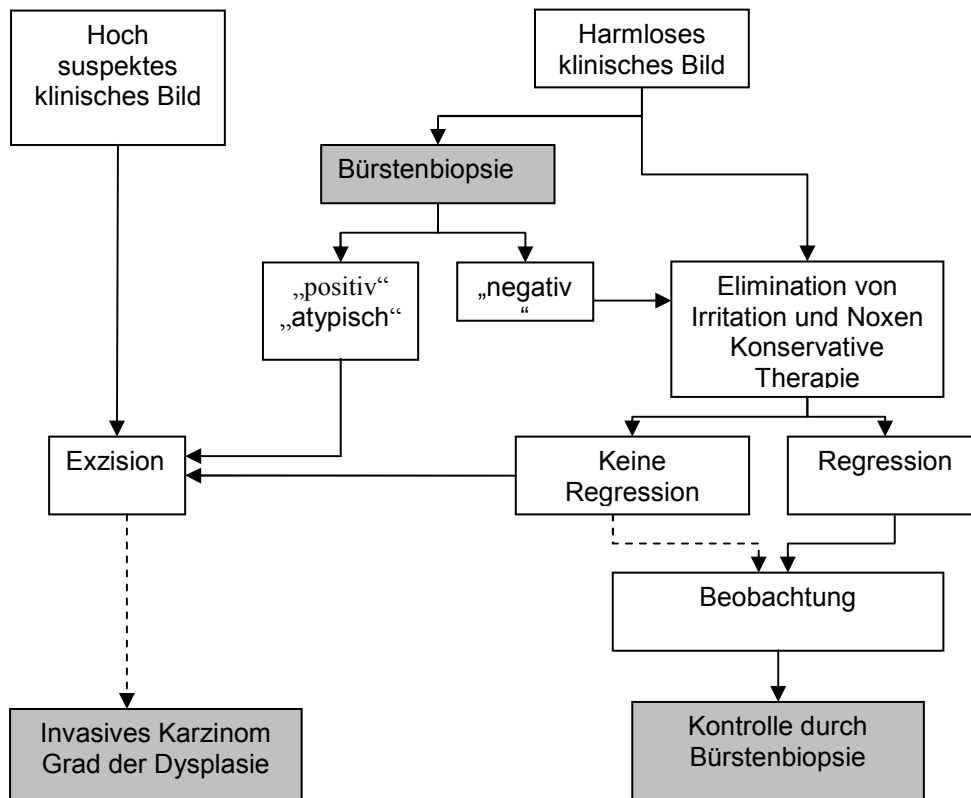




Abb. 5: Persönliches Anschreiben an die Behandler :

**Pathologie-Praxis und Institut Reutlingen**

Oral CDx Laboratories Germany

Leiter: Prof. Dr. A. Burkhardt

Diebsteigle 13 D – 72764 Reutlingen

Tel.: 07121/240121 – Fax.: 07121/200-3499

Adresse

Datum

**Orale Bürstenbiopsie „Oral CDx“  
„Follow-up“ auffälliger Befunde**

Sehr geehrte Frau Kollegin, sehr geehrter Herr Kollege,

Sie hatten uns in den vergangenen Jahren Orale Bürstenbiopsien zur Untersuchung geschickt. Für das Vertrauen in unser Labor bedanken wir uns.

Um die Qualität unserer Untersuchungen zu überprüfen und fortzuentwickeln, ist es für uns von fundamentaler Bedeutung, den weiteren Verlauf bei den von uns als auffällig (atypisch/positiv) eingestuften Patienten zu erfahren (sog. „Follow-up“).

Bei Ihnen handelt es sich um ..... Patienten.

Wir bitten Sie deshalb herzlich, uns die hierfür nötigen Angaben auf dem beigefügten Formular zu machen und mit dem Freiumschlag zurückzusenden.

Für jedes zurückgesandte Formblatt, d.h. für jeden Patienten, werden wir Ihnen als kleine Entschädigung

**2 Oral CDx Test Kits (kostenlos)**

zusenden.

Mit Dank im Voraus und freundlichen Grüßen

Prof. Dr. A. Burkhardt

Abb. 6: Follow-up Formular, das den Behandlern für diese Studie zugesandt worden ist:

### Follow-up Formular

Die Probe O-Nr. .... Ihres/Ihrer Patienten/in

....., geb. .... ,

die uns am ..... zugesandt wurde, wurde von uns als positiv/atypisch eingeordnet.

#### Verlauf:

- Bei dem/der Patienten/in wurde eine Exzisionsbiopsie durchgeführt.  
Untersuchungsnummer: .....

Untersucht im Pathologischen Institut: .....

Ergebnis:

- Karzinom
  - Dysplasie – gering – mittel – schwer
  - Entzündung
  - Lichen planus
  - Sonstiges .....
- Der/Die Patient/in wurde klinisch weiter beobachtet.
    - Rückbildung partiell/total
    - unverändert
    - Karzinom
  - Verlauf unbekannt  
Der/Die Patient/in wurde von mir nicht wieder gesehen.
  - Überweisung und weitere Behandlung durch: .....

.....  
.....

....., .....

(Ort)

(Datum)

.....  
(Absender/Stempel)

Abb. 7: Gebrauchsanweisung zur Oral CDx Bürstenbiopsie (Fa. Pluradent) Seite 1:



## Mundschleimhautbürstenbiopsie für die Computer-assistierte Analyse Gebrauchsanweisung

### **A. Indikationen der Untersuchung und allgemeine Hinweise:**

Jede auffällige Mundschleimhautläsion sollte mit OralCDx auf Dysplasie oder Krebs getestet werden. Diese Läsionen beinhalten: Leukoplakie und Erythroplakie, Ulzeröse Läsionen, entzündliche Veränderungen, wie Lichen planus und Lingua geographica; Candidiasis; Präkanzerosen und Mundhöhlenkarzinome.

Jedes OralCDx Testkit enthält eine eingeschweißte und sterile Biopsiebürste. Diese Bürste ist speziell konstruiert worden, um eine vollständige transepitheliale Biopsie mit minimaler Belastung für den Patienten entnehmen zu können. Die klinische Erfahrung hat gezeigt, daß keine nennenswerten Blutungen bei der Entnahme auftreten und daß eine lokale oder topische Anästhesie nicht notwendig sind. Die Bürste sollte für die Entnahme aller Proben benutzt werden. Die richtige Anwendung dieses Instrumentes garantiert ein adäquates Biopsiematerial mit allen 3 epithelialen Schichten (basal, intermediär, superfiziell) der Läsion.

---

Topische Anästhesie ist nicht erforderlich und sollte nicht angewandt werden, da hierdurch das Material verändert werden kann.

Der Glasobjektträger ist codiert und entspricht der Markierung des Begleitscheines; es ist deshalb nicht nötig, auf den Objektträger irgendwelche weiteren Informationen zu schreiben. Jedes Testkit enthält 2 eingeschweißte Tüten mit Fixationsalkohol. In den meisten Fällen genügt eine Tüte, um den gesamten Objektträger zu fixieren. Die zweite Tüte ist als Reserve gedacht, falls eine Tüte austrocknet oder verschüttet wird. Bitte schicken Sie die nicht benutzte Alkoholtüte mit den Präparaten zurück.

Alle OralCDx Diagnosen, die „atypisch“ oder „positiv“ lauten, sollten baldmöglichst durch eine Exzisionsbiopsie und histologische Analyse abgeklärt werden. Jede Läsion, die hochgradig karzinomverdächtig ist, sollte in jedem Falle histologisch untersucht werden. Eine persistierende Läsion, die mit dem OralCDx Verfahren als „negativ“ eingestuft wurde, sollte beobachtet werden und periodisch mit dem OralCDx Verfahren überprüft werden.

### **B. Abrechnung**

Die Biopsieentnahme durch den Zahnarzt und die Auswertung durch den Pathologen werden wie herkömmliche Mundschleimhautbiopsien bzw. histologische und zytologische Untersuchungen abgerechnet.

Abb. 8: Gebrauchsanweisung zur Oral CDx Bürstenbiopsie (Fa. Pluradent) Seite 2:

**C. Die Probenentnahme und der Probenausstrich:**

1. Öffnen Sie eine der Alkoholtüten an der markierten Stelle.
2. Entnehmen Sie den codierten Objektträger dem Plastikbehälter und legen Sie ihn bereit.
3. Feuchten Sie die Biopsiebürste mit Wasser oder Patientenspeichel an, insbesondere, wenn es sich um eine trockene Läsion handelt.
4. Drücken Sie die Biopsiebürste fest gegen die Oberfläche der Läsion, bis der Stiel leicht durchbiegt und rotieren Sie die Bürste 5-10 mal (abhängig von der Dicke der Läsion und der Keratinisierung) bis kleine rote Punkte oder Mikroblutungen auftreten.

**Achtung: Die Schritte 5 und 6 sollten unmittelbar nach Schritt 4 erfolgen, um ein Austrocknen der Präparate zu verhindern.**

5. Ausstreichen des Zellmaterials der Bürste auf dem mitgelieferten Glasobjektträger. Unter leichter Rotation wird die Bürste über dem Objektträger in Längsrichtung ausgestrichen um so viel Zellmaterial und so gleichmäßig wie möglich von einem Ende des Glasobjektträgers zum anderen abzustreichen.
6. Nach dem Ausstreichen der Bürste wird diese in das mitgesandte Formalinröhrchen versorgt, hierzu kann es nötig sein, die Bürste vom Stiel durch einen Seitenschneider oder eine Zange zu trennen.
7. Fixation des Zellmaterials auf dem Objektträger durch Aufspritzen der Fixationsflüssigkeit oder mit dem in Tüten eingeschweißten Alkohol. Hierzu wird die Tüte gefaltet, aufgerissen und der enthaltene Alkohol satt auf den Objektträger aufgetropft. Sollte die Tüte ausgetrocknet oder der Alkohol verschüttet worden sein, so kann die zweite Tüte benutzt werden. Auch bei reichlicher Flüssigkeit auf dem Objektträger gehen die Zellen nicht verloren. Nach 15 Minuten ist die Fixationsflüssigkeit verdunstet und der Objektträger kann versandt werden.
8. Der Objektträger wird 15 Minuten lang getrocknet und dann in dem Plastikbehälter versorgt.
9. Der Objektträgerbehälter wird in dem mitgelieferten Plastiksack gesteckt und mit dem Adhäsionsverschluß verschlossen. In die Nebentasche wird der Begleitschein plaziert. Sollte eine Alkoholfixationstüte nicht benutzt worden sein, so bitten wir ebenfalls um Rücksendung.
10. Die Plastiktüte und das Formalinröhrchen mit der Bürste werden in den zur Verfügung gestellten frankierten Umschlag gesteckt, der Umschlag verschlossen und an das CDx Labor geschickt.

## **11. Danksagung**

Mein allerherzlichster Dank gilt Frau Prof. Dr. A. M. Schmidt-Westhausen für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Betreuung während der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A. Burckhardt danke ich für die freundliche Unterstützung und die außerordentlich gute Zusammenarbeit mit ihm und den Mitarbeitern des Pathologischen Instituts in Reutlingen.

Der Firma Pluradent bin ich für die zur Verfügung gestellten Oral CDx Test Kits dankbar.

## **12. Curriculum Vitae**

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

### **13. Eidesstattliche Erklärung**

„Ich, Jana Volmajer, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „OralCDx® Computer-assistierte Analyse der Bürstenbiopsie – Klinischer Verlauf von Patienten mit Nachweis von positiven/atypischen epithelialen Zellen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

---

Datum

---

Jana Volmajer