

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

DISSERTATION

Die Anwendung der oralen Bürstenzytologie in der
Diagnostik intraoraler Erkrankungen -
Eine retrospektive Studie über drei Jahre ab 2009 bis
2012 auf Grundlage der s2k- Leitlinie der DGZMK

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Luisa Daniel

aus Potsdam

Promotionsdatum: 12. September 2014

Für meinen Vater.

Dich stolz zu machen war mein Antrieb und meine Motivation

1. Zusammenfassung	4
1.1. Zusammenfassung	4
1.2. Summary	5
2 Einleitung	7
3. Literaturübersicht	9
3.1. Anatomie der Mundschleimhaut	9
3.2. Präkanzeröse Läsionen und Konditionen	11
2.2.1. Definition und Unterteilung	11
2.2.2. Karzinogene Risikofaktoren	12
3.3. Leukoplakie	14
3.4. Epitheldysplasie der Mundschleimhaut	16
3.5. Bürstenzytologie	19
3.5.1. Historie	19
3.5.2. Konventionelle Zytologie	20
3.5.3. Oral CDx [®] - Die Computerassistierte Auswertung	21
3.5.4. DNA- Zytometrie	22
3.5.5. Immunzytochemie	23
3.5.6. Sensitivität und Spezifität	23
3.5.7. Indikation	28
3.5.8. Klinische Anwendung	28
3.6. Weitere Screening- Methoden	29
3.6.1. Klinische Untersuchung	29
3.6.2. Toluidinblau	29
3.6.3. 5- Aminolävulinsäure (5- ALA)	30
3.6.4. Autofluoreszenz	30
3.7. Inzisions- und Exzisionsbiopsie	31
3.8. Die s2k- Leitlinie der DGZMK zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms	32
4. Herleitung einer Aufgabenstellung	34
5. Patienten und Methode	35
5.1. Patienten	35
5.2. Patienten- Basisdaten	35
6. Ergebnisse	37
7. Diskussion	49
8. Schlussfolgerung	68
9. Literaturverzeichnis	70
10. Anhang	81

11. Eidesstattliche Erklärung	83
12. Curriculum Vitae	84
13. Danksagung.....	85

1. Zusammenfassung

1.1. Zusammenfassung

Einleitung: Im Jahr 2010 veröffentlichte die DGZMK eine Leitlinie zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms. Darin wird der Gebrauch der Bürstenzytologie auf die Diagnostik homogener Leukoplakien begrenzt. Es wurde empfohlen, Patienten mit inhomogenen Leukoplakien oder Läsionen mit Karzinomverdacht an eine kieferchirurgische Fachklinik für eine weiterführende Diagnostik zu überweisen.

Fragestellung: Wurde durch die Einführung der s2k- Leitlinie der DGZMK die Arbeitsroutine deutscher Zahnärzte im Umgang mit der Bürstenzytologie vor und nach Veröffentlichung der Leitlinie verändert?

Patienten und Methode: Im Rahmen dieser Studie konnten 1499 Einsendungen deutscher Zahnärzte im Zeitraum vom dritten Quartal 2009 bis zum ersten Quartal 2012 untersucht werden, die durch das Zentrum für Oralpathologie in Potsdam (Zentrum für Oralpathologie, Dr. med. H. Ehardt, Friedrich- Ebert- Str. 33, 14469 Potsdam, Deutschland) ausgewertet worden sind. Die auf dem Einsendeschein angegebenen Verdachtsdiagnosen wurden hinsichtlich der klinischen Indikation bewertet und in Bezug zu den Forderungen der Leitlinie und den zytologischen Befunden evaluiert.

Ergebnisse: Von den untersuchten 1499 Fällen zeigten 38,5% der Patienten klinische Anzeichen einer homogenen Leukoplakie, 14,2% eines oralen Lichen planus, 11,6% der Patienten hatten klinische Symptome einer Candidiasis, bei weiteren 6% wurde ein orales Plattenepithelkarzinom vermutet und bei 14,3% sind andere Verdachtsdiagnosen gestellt worden (z.B. Fibrom, Zungenbrennen, Gingivitis und andere). 13,8% der Begleitscheine konnte keine klinische Verdachtsdiagnose entnommen werden.

In der zytologischen Auswertung konnten Hyperortho- und Parakeratosen in 63,3% nachgewiesen werden. 16,8% Patienten hatten eine orale Candidiasis und 5,7% der Präparate enthielten atypische oder dysplastische Zellen.

Insgesamt wurde die Indikation in 59,7% der Einsendungen leitliniengerecht gestellt. Dieser Prozentsatz blieb in dem untersuchten Zeitraum nahezu unverändert.

Schlussfolgerung: 40,3% der Zahnärzte wenden die Bürstenzytologie nicht entsprechend der Leitlinie an. Die häufigste Fehlerquelle stellte hierbei der Versuch dar, repräsentatives Zellmaterial von submukösen Krankheitsprozessen zu sammeln, die nur durch eine Skalpellbiopsie vom Pathologen hinreichend verifiziert werden können. Die vorliegende Studie zeigt deutlich, dass die Aus- und Fortbildung deutscher Zahnärzte zur Diagnostik von Mundschleimhauterkrankungen und leitliniengerechter Anwendung diverser Diagnosehilfsmittel verbessert werden muss. Wird die Bürstenzytologie korrekt angewendet, stellt sie eine sinnvolle Ergänzung zur klinischen Kontrolle nicht suspekter Mundschleimhautläsionen, die primär nicht durch eine chirurgische Biopsie untersucht werden, dar.

1.2. Summary

Introduction: The German Society of Dental, Oral and Craniomandibular Sciences introduced guidelines for diagnostic workup of oral potentially malignant disorders and leukoplakia in 2010. The use of brush biopsy was recommended to general dental practitioners to investigate homogeneous leukoplakia. Patients with inhomogeneous leukoplakia i.e. suspicious for carcinoma should be referred to maxillofacial surgery departments according to this guideline.

Purpose: What are the impacts of the guideline on the daily routine of German dentists dealing with leukoplakic lesions?

Material and Methods: This study included 1449 cytology reports from patients investigated by brush biopsy in dental offices in Germany from the third quarter of the year 2009 until the first quarter of 2012. All of the cytological samples were analysed at the Centre of Oral Pathology in Potsdam (Centre of Oral Pathology, Friedrich-Ebert-Str. 33-34, 14469 Potsdam, Germany).

The indication to use brush biopsy to investigate the given lesion was assessed and correlated to the guidelines as well as to the cytopathological diagnosis.

Results: In the years 2009 to 2012 out of 1449 patients 38,5% presented clinically with homogeneous leukoplakia, 14,2% of the patients with signs of oral lichen planus, 11,6%

of the patients with candidiasis, and 14,3% of the cases with other lesions (i.e. fibrous polyps, gingivitis, burning mouth disease, and others). 6% of the investigated patients appeared with clinical signs of oral squamous cell carcinoma. In 13,8% of the cases there were no given clinical informations about the indication for brush biopsy. Cytologically, hyperortho- and parakeratosis was found in 63,3% of the cases, 16,8% patients had candidiasis, and 5,7% of the lesions contained atypical/dysplastic keratinocytes. The guidelines were followed in 895 out of 1499 cases (59,7%).

Conclusions: In this study brush biopsy was used in 40,3% of cases of intraoral lesions without proposed indication and therefore without chance to get the right diagnosis. Dentists tried to investigate especially submucosal oral lesions by brush biopsies, which should rather be done by incisional biopsy. Further training and promotion of the guidelines is necessary to improve the use of brush biopsy in oral leukoplakia. Brush biopsy is a screening test rather than a diagnostic tool and should be used according to approved guidelines only.

2. Einleitung

Das orale Plattenepithelkarzinom zählt mit einer Fünfjahresüberlebensrate von 59% der Frauen und 44% der betroffenen Männer zu den aggressivsten Karzinomen. Die Zahl der Neuerkrankungen in Deutschland steigt stetig an und manifestierte sich im Jahr 2008 mit 9520 Initialdiagnosen unter Männern und 3490 unter Frauen (Kaatsch, Spix et al. 2012).

Weltweit konzentrieren sich die Hälfte aller Krebserkrankungen auf die Population der Industrieländer, die lediglich ca. ein Sechstel der kompletten Weltbevölkerung darstellen (Bray, Ren et al. 2013). Hierbei spielen klassische Risikofaktoren, wie Nikotin- und Alkoholkonsum eine wichtige Rolle (Maasland, Kremer et al. 2013). Auch die zunehmende Inzidenz oraler HPV- Infektionen nimmt vermehrt Einfluss auf die Ätiologie oraler Mundschleimhautläsionen (Nelke, Lysenko et al. 2013).

Jeder nicht frühzeitig diagnostizierte Fall kann in einer nicht tolerablen Therapieverzögerung mit signifikant verschlechterter Prognose resultieren (Kowalski und Carvalho 2001). Während in den letzten Jahrzehnten die Überlebensraten für Plattenepithelkarzinome im Frühstadium verbessert werden konnten, zeigt sich trotz anhaltender Weiterentwicklung diverser Therapieverfahren eine Stagnation des Behandlungserfolges der in fortgeschrittenen Stadien diagnostizierten Karzinome (Dahlstrom, Calzada et al. 2013).

Umso folgenreicher ist es, dass viele niedergelassene Zahnärzte zwar das klinische Bild eines fortgeschrittenen Karzinoms, nicht aber die Manifestation des Frühstadiums beschreiben können (Hertrampf, Wiltfang et al. 2010).

6,27% der oralen Plattenepithelkarzinome gehen aus einer Vorläuferläsion hervor, weshalb auch ihnen eine besondere Bedeutung zukommt (Petti 2003).

Um ein eindeutiges Behandlungsschema zu etablieren, veröffentlichte die DGZMK im Jahr 2010 eine Leitlinie zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms (Kunkel, Bengel et al. 2010). Sie legt fest, wie zu verfahren ist, sollte bei einem Patienten der Verdacht auf eine potentiell maligne oder sogar maligne entartete Läsion bestehen. Unter anderem wird die Bürstenzytologie als ein junges Verfahren zur Untersuchung nicht suspekter Läsionen vorgestellt. Möglichkeiten und Grenzen des Screeningtools werden klar auf die ergänzende Zellentnahme klinisch nicht- malignitätsverdächtiger Läsionen begrenzt, die primär nur beobachtet worden wären. Epitheldysplasien sollen so frühzeitig erkannt und das Risiko

einer malignen Transformation reduziert werden (Warnakulasuriya, Kovacevic et al. 2011).

Eine sinnvolle Integration in den Praxisalltag ist allerdings nur möglich, wenn Anwender die Nutzung der Bürstenzytologie an die Empfehlungen der Leitlinie anlehnen.

Ob diese Vorgaben von niedergelassenen Zahnärzten deutschlandweit eingehalten wurden, ist Gegenstand der Betrachtung dieser Studie.

3. Literaturübersicht

3.1. Anatomie der Mundschleimhaut

Die gesamte Mundhöhle wird von der Mundschleimhaut ausgekleidet. Verschiedene Bereiche zeigen unterschiedliche Anforderungsprofile, an die sich die Schleimhaut ständig anpassen muss. Bei der Nahrungszerkleinerung entstehen große Kräfte, die über die Zähne in den Alveolarknochen abgeleitet werden (Helkimo, Carlsson et al. 1977). Auch die Schleimhaut wird bei diesem Prozess beansprucht und muss speziell in diesen Regionen derb ausgebildet sein. Die dort vorkommende mastikatorische Schleimhaut weist eine vierschichtige Epithelschicht auf, die sich aus einem Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum und einem Stratum corneum zusammensetzt. Letztere besteht aus stark abgeflachten Hornschuppen, die in mehreren Schichten übereinander liegen. Die Schuppen entstehen aus Keratinozyten, die von der basalen Schicht in superfizielle Schichten wandern und sich umwandeln. Im letzten Prozess, dem sogenannten Verhornungssprung, dehydrieren sie und verlieren ihre Zellkerne und Organellen. Läuft die Autolyse der Zellkompartimente vollständig ab, führt das zu einer Orthokeratinisierung des Stratum corneum. Sollten sich zwischen den vollständig keratinisierten Zellen auch kernhaltige finden, spricht man von einer Parakeratinisierung, die dem entsprechenden Epithel eine gewisse Flexibilität und Dehnbarkeit verleiht (Radlanski 2011). Physiologisch findet sich dieses Epithel an Gingiva, Zunge und Gaumen (Drenckhahn 2003).

Die übrigen Regionen sind bedeckt von der auskleidenden Schleimhaut, deren Charakteristika Dehnbarkeit und Flexibilität sind. Sie bestehen nur aus drei Schichten, da die beiden superfiziellen Schichten wegen der ausbleibenden Verhornung zum Stratum distendum zusammengefasst werden. Im nicht keratinisierten Epithel finden sich in der obersten Zellschicht zwei Zelltypen. Zum einen parakeratinisierte und zum anderen kernhaltige Zellen, die nicht die Umwandlungsprozesse einer Hornschuppe durchlaufen und somit die Dehnbarkeit der Schleimhaut sichern (Radlanski 2011). Nachteil der unvollständigen Verhornung ist eine erhöhte Permeabilität der Schleimhaut für Agenzien aller Art.

Der Gaumen unterteilt sich in zwei Regionen: harter und weicher Gaumen. Die Schleimhaut des harten Gaumens ist insgesamt dünner als die der Wange oder Lippe, aber wesentlich belastbarer. Das vierschichtige Epithel ist orthokeratinisiert und weist eine regelmäßige Struktur auf. An zwei Stellen, der fibrösen Mediazone und der

fibrosen Randzone nahe der Raphe mediana und der palatinalen Gingiva, liegt das Epithel direkt ohne eine vermittelnde Submukosa auf dem Periost auf. In den Bereichen dazwischen ist eine Submukosa vorhanden. Im hinteren Bereich weisen kleine dunkle Punkte auf die Ausführungsgänge der submukösen Speicheldrüsen hin. Das vordere Drittel ist charakterisiert durch die Rugae palatini, die sich durch Bindegewebsfasern auffalten (Drenckhahn 2003, Radlanski 2011).

An der Ah- Linie geht der harte in den weichen Gaumen über, der nur noch drei Epithelschichten aufweist: das Stratum basale, Stratum filamentosum und Stratum distendum. Im dorsalen Anteil schließt sich der Mundschleimhaut respiratorisches Epithel an.

Die Schleimhaut des harten Gaumens geht über in die der Gingiva. Sie umgibt die Zähne und den Alveolarfortsatz, an dem sie an der mukogingivalen Grenzlinie in die Alveolarschleimhaut übergeht. Sie ist über ein derbes kollagenes Bindegewebegeflecht fest mit dem Knochen und Periost verbunden und dadurch nicht verschieblich. Bei einigen Menschen findet sich am befestigten Anteil eine Stippelung als Zeichen inserierender Fasern und ausgeprägten Bindegewebspapillen zu denen sich die Lamina propria basal der epithelialen Basalmembran aufwirft (Radlanski 2011). Hierbei nimmt die Basalmembran eine vermittelnde Position ein, indem sie Antigene, Integrine, Laminin 111 und 332 und Kollagen unterschiedlicher Typen exprimiert (Hohenester und Yurchenco 2013). Nach koronal geht die „attached“ Gingiva über in die freie Gingiva, die sich um den Zahn herumzieht. Strukturell gibt es zwischen beiden nur einen Unterschied: Während der zum Zahn hin zeigende Anteil der freien Gingiva nicht keratinisiert ist, ist der orale Anteil der freien und der befestigten Gingiva zu 20-30 % ortho- und zu 50- 70% parakeratinisiert (Radlanski 2011).

Nach einer Übergangszone von 0,6 bis 1,8 mm, die auch bei zahnlosen Patienten deutlich sichtbar bleibt, folgt die Alveolarschleimhaut. Sie ist nicht verhornt und gegen ihre Unterlage verschieblich, sodass sie den Bewegungen der Wangenschleimhaut folgen kann.

Im Gegensatz dazu liegt die Wangenschleimhaut in der Tiefe dem Musculus buccinator fest auf und hat somit keine Eigenbeweglichkeit. Sie kann dennoch stark gedehnt werden. Auch sie ist mit ihrem dreischichtigen Epithel nicht verhornt, außer auf Höhe der Okklusionsebene, der Linea alba (Radlanski 2011).

Die Schleimhaut der Lippe liegt der mimischen Muskulatur auf, in die elastische Fasern der epithelialen Lamina propria einstrahlen. Auch sie ist nicht keratinisiert. Nach einer

parakeratinisierten Zone, dem Lippenrot, geht die Schleimhaut in die verhornte Epidermis der Ober- und Unterlippe über. Weil sie nur sehr zart verhornt ist, schimmern die Kapillaren darunter liegender Schichten durch, die den Lippen ihre rote Farbe verleihen (Drenckhahn 2003).

Die Zunge wird unterteilt in Zungenspitze (Apex linguae), Zungenkörper (Corpus linguae) und –wurzel (Radix linguae), die im Pharynx liegt. Sie wird komplett aus quergestreifter Muskulatur gebildet und ihr Rücken ist bedeckt von einer hochspezialisierten Schleimhaut. In das keratinisierte Epithel sind Papillen und knospenartige Körper eingelassen, die der Tast-, Temperatur- und Geschmacksempfindung dienen. In der darunterliegenden Lamina propria verlaufen viele Nerven und Gefäße, die die Versorgung und Reizweiterleitung sichern. Während der Zungenrücken ganz und gar von Papillen verschiedenster Art bedeckt wird, ist die ventrale Seite frei von ihnen. Das Epithel zeigt den gleichen Aufbau wie das des Mundbodens, das dünn und nicht keratinisiert ist (Drenckhahn 2003, Radlanski 2011).

3.2. Potenziell maligne Läsionen

3.2.1 Definition und Unterteilung

Seit 1973 werden präkanzeröse Läsionen von präkanzerösen Konditionen unterschieden. Diese Einteilung basiert auf den Empfehlungen einer WHO-Arbeitsgruppe. Demnach ist eine präkanzeröse Läsion definiert als morphologisch verändertes Gewebe, in dem maligne Tumoren häufiger auftreten als in entsprechendem Normalgewebe. Die präkanzeröse Kondition hingegen gilt als generalisierter Zustand, der mit einem signifikant erhöhten Karzinomrisiko einhergeht (Kramer, Lucas et al. 1978). Diese Unterteilung basiert auf der Annahme, dass eine maligne Entartung in dem Areal der klinisch detektierten Gewebsveränderung eher stattfindet als in gesunder, unauffälliger Mukosa. Mittlerweile weiß man, dass ein Tumor, ebenso wie Dysplasien, auch im klinisch normalen Gewebe der kontralateralen Seite oder an anderer Stelle der Mundhöhle auftreten kann. Ebenso gehen besagte Veränderungen mit einem erhöhten Entartungsrisiko einher, münden aber nicht zwangsweise in einer malignen Transformation. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde die Unterteilung in präkanzeröse Läsionen und Konditionen 2005 in einem WHO-Workshop diskutiert. Klinischen Veränderungen, die mit einem signifikant erhöhten Karzinomrisiko einhergehen, sollten unter dem Begriff „potenziell maligne Veränderung“ zusammengefasst (Warnakulasuriya, Johnson et al. 2007) werden.

Die WHO hat in ihrer Neuauflage 2005 die bestehenden Definitionen und Klassifikationen übernommen:

A) Präkanzeröse Läsion

1. Leukoplakie
2. Erythroplakie
3. Erythroleukoplakie

B) Präkanzeröse Kondition

1. Proliferierende verruköse Leukoplakie
2. Sideropenische Dysphagie
3. Orale Lichen planus (OLP)
4. Submuköse Fibrose
5. Syphilis
6. Lupus erythematodes
7. Epidermolysis bullosa dystrophicans
8. Xeroderma pigmentosum (Barnes, Everson et al. 2005)

3.2.2 Karzinogene Risikofaktoren

Tabak enthält viele kanzerogene, mutagene und genotoxische Inhaltsstoffe und wird als zentraler Risikofaktor betrachtet.

Weltweit sind über 1,1 Milliarden Erwachsene Raucher. Das entsprach zum Zeitpunkt der Schätzung in etwa 29% der Erwachsenen über 18 Jahren (Anderson 2006). Fast sechs Millionen Menschen sterben jährlich an den Nebenwirkungen des Tabaks, davon sind laut WHO mehr als 600 000 Nichtraucher, die Zigarettenrauch ausgesetzt waren (Scollo, Lal et al. 2003).

60 von 4000 im Zigarettenrauch enthaltenen Inhaltsstoffen wurden an Tieren für kanzerogen befunden, wovon 15 als kanzerogen für den Menschen gelten (Hecht 2006). Zu nennen sind hierbei polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, Benzo[a]pyren, die Nitrosamine N-Nitrosoornikotin (NNN) und 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butaton (NNK), Nickel und das Schwermetall Cadmium. Nikotin gilt nicht als direkt kanzerogen, übt dennoch durch eine Erhöhung der Produktion freier

Sauerstoffradikale, welche die Wirkung der Nitrosamine potenziert, eine indirekt genotoxische Wirkung aus.

Man findet Tabak nicht nur in Zigaretten, Zigarren oder Pfeifen, sondern auch in oral appliziertem Schnupf- oder Kautabak. Letztgenannter ist durch seinen direkten Kontakt mit der oralen Mukosa und eine längere Verweildauer in der Mundhöhle besonders gefährlich. Tabakspezifische Nitrosamine sind in diesen Produkten in höheren Konzentrationen enthalten und können somit vermehrt über die Schleimhäute aufgenommen werden (Hecht, Carmella et al. 2007).

Alkohol kann auf verschiedenen Wegen Einfluss auf die Karzinogenese nehmen. Hierbei werden u. a. systemische Auswirkungen durch übermäßigen Alkoholgenuss diskutiert. Die vermehrte Induktion mikrosomaler Enzyme in der Leber und im Gastrointestinaltrakt bewirkt im Rahmen des natürlichen Detoxifikationsprozesses eine Aktivierung des Prokarzinogens (Ethanol) zum Karzinogen (Acetaldehyd), das im Gegensatz zu Ethanol eine kovalente Bindung mit der DNA eingehen kann. So kann Ethanol, das zuvor rezeptorfrei in die Zellen der oralen Schleimhäute diffundiert ist, bedingt eine karzinogene Wirkung ausüben.

Da Alkoholismus im fortgeschrittenen Stadium häufig mit Mangelzuständen von Vitaminen und Spurenelementen, u. a. ausgelöst durch eine Fehl- bzw. Mangelernährung (Seitz 1990, Pöschl, Stickel et al. 2004) und Immunkompromittierung, einhergeht, ist durch eine systemische Beeinträchtigung die lokale Abwehr karzinogener Noxen erschwert.

Primär ist jedoch die erhöhte Permeabilität der Schleimhäute nach Kontakt mit Alkohol von Bedeutung. Der genaue Mechanismus ist bisher unklar. Howie et al. diskutierten nach ihren Versuchen mit Ethanol in verschiedenen Konzentrationen eine Umstrukturierung der Lipidbarriere mit daraus resultierender vermehrter interzellulärer Penetration diverser Moleküle und Karzinogene. Sie konnten ebenfalls feststellen, dass die kritische Alkoholkonzentration für die Schleimhaut schon bei 15 Vol% beginnt, was mit einem Glas Wein vergleichbar ist, und in einer Ausdünnung des Epithels auf Kosten der superfiziellen Zellschicht resultiert. Bei Kontakt mit 40 prozentigem Ethanol kann es sogar zu einer Ablösung dieser Schicht kommen (Howie, Trigkas et al. 2001).

Erhöhter Alkoholkonsum verringert durch eine Degeneration des Drüsenparenchyms der Kopfspeicheldrüsen den Speichelfluss mit dem Effekt, dass die lokale Expositionszeit irritierender Agenzien verlängert wird (Slomiany, Piotrowski et al. 1997).

Ist bei chronischem Konsum von Alkohol und Tabak ein erhöhtes kanzerogenes Risiko zu verzeichnen, verhält sich eine Kombination beider Gewohnheiten nicht additiv sondern multiplikativ.

Die durch Ethanol verstärkte Permeabilität für Kanzerogene in Tabakprodukten, wie N-Nitrosornikotin, wird in Anwesenheit von Nikotin noch einmal erhöht (Du, Squier et al. 2000)

Eine in der Literatur diskutierte Ursache für die Entstehung und mögliche Entartung einer potenziell malignen Läsion ist die Infektion mit Humanen Papillomaviren (Yang, Lee et al. 2009, Feller und Lemmer 2012). Die Kategorisierung der Subtypen erfolgt analog der genital vorkommenden Viren. Demnach werden „low-risk“- , wie HPV- 6, 11,13 und 32, von „high-risk“- Viren, wie HPV- 16, 18, 31,33 und 35, unterschieden. Von den bisher 120 untersuchten Genotypen konnten in oralen benignen, präkanzerösen und malignen Läsionen 24 unterschiedliche Subtypen nachgewiesen werden. Davon gelten 13 als high-risk Viren (Rautava und Syrjanen 2011). HP- Viren sind in oralen prämaligen Läsionen und Plattenepithelkarzinomen häufiger nachgewiesen worden als in Kontrollgruppen mit gesunder Mukosa (Syrjänen, Lodi et al. 2011). Durch Onkoproteine kann es zu einer Interaktion mit der Wirtszelle kommen. Die von HPV- 16 und 18 eingeschleusten Onkoproteine E6 und E7 gelten als die potentesten. Durch Interaktion mit dem Tumorsuppressor-Protein p54, die Beeinflussung der Epitheldifferenzierung und Zellapoptose sowie durch Stimulation der Proliferation kann das Risiko der Entartung einer infizierten Zelle bei persistierender HPV- Infektion erhöht sein.

Zuletzt ist auch eine chronische Candidiasis als Risikofaktor nicht zu vernachlässigen. Candida Spezies, u. a. C. albicans, sind in der Lage Acetaldehyd aus Alkohol oder durch Fermentation aus Glukose zu produzieren. In Anwesenheit des entsprechenden Substrats kann eine mutagene Konzentration von Acetaldehyd erreicht werden, was die Pathogenese einer bestehenden Läsion bei einer Candida Superinfektion beeinflussen kann (Chiu, Li et al. 2011, Gainza-Cirauqui, Nieminen et al. 2012).

3.3 Leukoplakie

Die World Health Organisation WHO definiert die orale Leukoplakie als vorwiegend weiße Veränderung der Mundschleimhaut, die weder klinisch noch histopathologisch als eine andere definierbare Schleimhautveränderung charakterisiert werden kann (Kramer, Lucas et al. 1978). Diese ursprüngliche Definition von 1978 wurde in der

Klassifikation der Kopf- Hals- Tumoren 2005 übernommen (Barnes, Everson et al. 2005). Im gleichen Jahr wurde von einer durch die WHO koordinierte Arbeitsgruppe eine Modifizierung vorgeschlagen. So wird der Begriff Leukoplakie als weiße Plaque mit möglichem Risiko maligner Entartung nach Ausschluss anderer bekannter Erkrankungen ohne erhöhtes Karzinomrisiko verstanden (Warnakulasuriya, Johnson et al. 2007). Differenzialdiagnostisch auszuschließen sind der weiße Schwammnaevus, Morsicatio buccarum, Linea alba, Friktionskeratosen, pseudomembranöse Candidose Leuködem, OLP bzw. lichenoiden Reaktionen, discoider Lupus erythematoses, Haarleukoplakie, sekundäre Lues, Verletzungen chemischer Ätiologie und tabakinduzierte Läsionen wie der Rauchergaumen oder Snuff-induzierte Läsionen (van der Waal 2009).

Obwohl von manchen Autoren eine Klassifikation der Leukoplakien wegen Ungenauigkeiten und begrenztem Nutzen in Frage gestellt wird (Warnakulasuriya, Johnson et al. 2007), gilt nach wie vor die Unterteilung der WHO in homogene und inhomogene Läsionen (Axell, Pindborg et al. 1996). Homogene Formen sind einheitlich weiß und flach, können aber mit einer wellig bis faltigen oder porösen Oberfläche imponieren. Im Gegensatz dazu zeigen inhomogene Leukoplakien Unregelmäßigkeiten in Farbe und Textur wie Ulzerationen, Noduli oder erythroplake Bereiche.

Eine besondere Form der inhomogenen Läsionen ist die proliferative verruköse Leukoplakie, die fast immer zu einem verrukösen Plattenepithelkarzinom entartet. Sie imponiert zunächst als eine lokalisierte plane Läsion mit multifokaler Wachstumstendenz, auf der sich exophytische, warzenartige, teilweise auch erythroplake Bereiche entwickeln. (Bagan, Scully et al. 2010, Bagan, Jimenez-Soriano et al. 2011).

Fehlen klinisch weiße Areale und zeigt sich eine homogene, dunkelrote Veränderung mit samtartiger oder granulierter Oberfläche, spricht man von einer Erythroplakie. Die klinisch sichtbare Erythroplakie ist häufig mit einem Carcinoma in situ assoziiert und geht mit einer erhöhten malignen Transformationsrate einher (van der Waal 2009).

Weltweit liegt die Prävalenz oraler Leukoplakien bei 2%, wobei Männer häufiger als Frauen betroffen sind (Petti 2003). In einer in Deutschland durchgeführten Studie lag die Prävalenz der Männer mit 2,3% ebenfalls höher als die der Frauen, die mit 0,9% angegeben wurde (Micheelis, Reich et al. 1999). Die Inzidenz maligner Entartungen wurde weltweit auf 1,3% geschätzt (Petti 2003). Laut Petti sollen 6,2% der oralen Plattenepithelkarzinome aus einer Leukoplakie hervorgegangen sein.

Es werden Faktoren benannt, die statistisch mit einem erhöhten Risiko maligner Transformation einhergehen. Von diesen im Folgenden genannten Faktoren wird das Vorhandensein von Dysplasien, die in inhomogenen Läsionen häufiger anzutreffen sind als in homogenen, als der wichtigste Faktor erachtet (Warnakulasuriya, Kovacevic et al. 2011).

Eine spezielle Histologie wird für Leukoplakien nicht beschrieben. Sie können mit Epitheldysplasien unterschiedlicher Gradierung, einer Akanthose, Hyperortho- und Hyperparakeratosen oder Atrophien einhergehen.

Faktoren, die das Risiko maligner Transformation von oralen Leukoplakien erhöhen:

- Weibliches Geschlecht
- Lange Persistenz der Läsion
- idiopathische Leukoplakie (bei Nichtrauchern)
- Lokalisation an Mundboden oder lateralem Zungenrand
- Ausdehnung der Läsion $> 200\text{mm}^2$
- Inhomogene Leukoplakie
- Anwesenheit bzw. Superinfektion mit *Candida albicans*
- epitheliale Dysplasien unterschiedlicher Gradierung
- Nachweis von DNA- Aneuploidie
- Patienten, die bereits früher ein Plattenepithelkarzinom im Kopf-Halsbereich entwickelten

3.4 Epitheldysplasie der Mundschleimhaut

Sind in einem Biopat histologisch strukturelle Veränderungen des Epithels wie eine irreguläre Schichtung mit zytologischen Veränderungen wie Zell- bzw. Kernatypien vergesellschaftet, spricht man von Dysplasien (Cardesa, Mentzel et al. 2008). Je ausgeprägter eine Charakteristik ist bzw. je mehr in einer Probe vorkommen, umso höher ist auch der Grad der Dysplasie.

Die Gradierung erfolgt nach der WHO in fünf Stufen (Cardesa, Mentzel et al. 2008, Warnakulasuriya, Reibel et al. 2008):

A) Hyperplasie mit erhöhter Zellzahl

Sie kann in der Stachelzellschicht (Akanthose) oder in der Basal- und Parabasalzellschicht (Basalzellhyperplasie) vorkommen. Hierbei bleibt die charakteristische Architektur des Epithels erhalten und es zeigen sich keine Zellatypien.

B) Dysplasie mit drei Graden:

1. milde Dysplasie :

Architekturstörungen begrenzt auf basales Drittel des Epithels einhergehend mit leichten zytologischen Atypien.

2. moderate Dysplasie:

Architekturstörung ausgedehnt bis ins mittlere Epitheldrittel einhergehend mit moderaten Atypien.

3. hochgradige Dysplasie:

Architekturstörung in mehr als zwei Dritteln des Epithels begleitet von zytologischen Atypien. Auch Architekturstörungen, die sich noch auf zwei Drittel des Epithels beschränken, aber massive zytologische Veränderungen aufweisen, werden in diese Kategorie integriert.

C) Carcinoma in situ:

Die ganze Epithelschicht ist von der architektonischen Störung erfasst und weist starke zytologische Veränderungen auf. Es ist häufig begleitet von atypischen Mitosen und anormalen oberflächlichen Mitosen. Man kann von einer malignen Transformation ausgehen, die wegen der erhaltenen Basalmembran noch nicht invasiv fortgeschritten ist.

Mithilfe der Exfoliativzytologie lassen sich lediglich zytologische Anomalien feststellen.

Zu ihnen gehören:

- Anisonukleose (abnorme Variationen der Zellkerngröße)
- Kernpleomorphologie (abnorme Variation der Zellkernmorphologie)
- Anisozytose (abnorme Variation der Zellgröße)
- zellulärer Pleomorphismus (abnorme Variation der Zellmorphologie)
- erhöhte Kern-Plasma-Relation
- atypische Mitosen

- Vermehrung und Vergrößerung der Nukleoli
- Hyperchromasie (erhöhter Chromatingehalt)
- dickere Kernmembran

Um den Grad einer Epitheldysplasie feststellen zu können, muss eine chirurgisch gewonnene Gewebeprobe histologisch begutachtet werden. Sie wird auf Veränderung der Architektur mit folgenden Charakteristika geprüft:

- irreguläre Epithelschichtung
- Verlust der Polarität der Basalzellen
- tropfenförmige Reteleisten
- erhöhte Mitosezahl
- oberflächliche Mitosen
- Dyskeratose (vorzeitige Keratinisierung einzelner Zellen)
- Hornperlen in den Retezapfen

Die Gradierung erfolgt durch den untersuchenden Pathologen und unterliegt mitunter subjektiven Parametern wie Erfahrung, aktuelles Fachwissen, etc. Die Interpretation verschiedener Pathologen führt folglich zu Varianzen in der Bewertung gleicher oder ähnlicher Biopate. Die WHO hat in einer Arbeitsgruppe die Reduktion der Klassen auf zwei Dysplasiegrade und die Einführung eines binären Systems vorgeschlagen. Durch die Unterteilung in „low-risk“ (milde Dysplasie) und „high-risk“- Läsionen (moderate und hochgradige Dysplasie) sei die Integration des Transformationsrisikos in die Beschreibung möglich. Weiterhin soll eine homogenere Klassifikation möglich sein (Warnakulasuriya, Reibel et al. 2008, Liu, Bao et al. 2011).

Sind Atypien bzw. Dysplasien durch den Pathologen verifiziert worden, müssen klinisch differenzialdiagnostisch andere Ursachen ausgeschlossen werden. Dazu gehören Verletzungen durch Trauma, Entzündung, Bestrahlung oder Ulzerationen, die durch reparierendes und regenerierendes Epithel auffallen. Auch Mangelernährung, assoziiert mit Eisenmangel, Folsäuremangel und Vitamin B12-Mangel müssen von potentiell malignen Läsionen abgegrenzt werden (Warnakulasuriya, Reibel et al. 2008).

3.5. Bürstenzytologie

3.5.1. Historie

Bereits 1855 forderte Virchow, sich bei der Untersuchung von Krankheiten nicht nur auf makroskopische Veränderungen und Symptome zu beschränken, sondern forderte die Zelle als kleinste Einheit des Körpers mit einzubeziehen (Virchow 1855). Er analysierte morphologische Unterschiede zwischen physiologisch und pathologisch neugebildeten Zellen und stellte sie 1858 vor (Virchow 1858).

Papanicolaou gelang es später durch Aufarbeitung gynäkologischer Abstriche mit spezieller Färbetechnik, die gering invasive Exfoliativzytologie zum Nachweis maligner Zellen als Alternative zur klassischen Biopsie anzubieten (Papanicolaou 1942, Traut und Papanicolaou 1943). Die erste zytologische Untersuchung von Mundschleimhautpräparaten mit Verdacht auf Leukoplakien und Karzinome folgte nur kurz darauf, wobei der Nachweis einer Leukoplakie lediglich auf die Anwesenheit von Keratinisierungen beschränkt blieb (Montgomery und Von Haam 1951). Die Anatomie der Mundschleimhaut erschwerte es, die Methodik der Exfoliativzytologie aus der Gynäkologie auf die Mundhöhle zu übertragen, obwohl sich der Aufbau und die maligne Transformation der Plattenepithelzellen in beiden Regionen gleichen (Kuffer und Lombardi 2002). So können Abstriche der gesamten Mundschleimhaut nicht erfasst werden, da sie eine andere Topografie und größere Fläche als die Portio uteri aufweist (Hullmann, Reichert et al. 2007, Dhingra und Mehrotra 2013). Außerdem ermöglicht die Transformationszone in der Portio uteri zwischen Plattenepithel und Drüsenepithel mit einem einfachen Abstrich maligne Zellen zu sammeln. Atypische Zellen migrieren dort frühzeitig an die Oberfläche (Burghardt 1969, Sciubba 1999). In der oralen Mukosa hingegen verweilen dysplastische oder maligne entartete Zellen zunächst in tieferen Zellschichten und wandern entweder nicht oder erst in späteren Stadien an die Oberfläche. Ein weiteres Problem besteht in der physiologischen Keratinisierung auskleidender Areale der Mundhöhle mit verstärkter Beanspruchung, die zu durchdringen ist, um aussagekräftiges Zellmaterial sammeln zu können (Sciubba 1999). So wurde versucht, durch Abtragung der atypischen keratotischen Schicht mit Metallspateln vor der Probenentnahme mit Watteträgern einen besseren Zugang zu erhalten (Sandler 1964) oder aussagekräftiges Probematerial direkt auf einen scharfen Löffel mit der sogenannten Abstrichkürettage zu kumulieren (Egger, Hommel et al. 1979), wodurch aber der minimal-invasive Charakter dieser Methodik im Vergleich zur Skalpellbiopsie verloren ging. Es wurde schließlich die Anwendung von Bürsten den

anderen Methoden vorgezogen. Zum einen, weil die Gewinnung von Zellproben tiefer Mukosaschichten mit der oralen Bürste gegenüber Watteträgern erleichtert wurde (Kawaguchi, Nogi et al. 1987) und zum anderen, weil die Verteilung des gesammelten Materials auf Objektträgern mit Spateln qualitativ unterlegen ist (Jones, Pink et al. 1994).

Wegen der im Vergleich zur Skalpelliobiopsie geringeren Sensitivität von 79 bis 97 % und Spezifität zwischen 95,1 und 99,5% (Driemel, Kunkel et al. 2008, Dhingra und Mehrotra 2013) wurde versucht, die lichtmikroskopische Untersuchung durch verschiedene Analysemethoden zu erweitern und zu ergänzen. Ein Ansatz ist die Bestimmung des zellulären DNA- Gehaltes Fluoreszenz mit Akridinorange. Ein anderer ist das Messen des Chromosomensatzes in der DNA- Zytometrie, bei der eine Computer- assistierte Auswertung möglich wird (Remmerbach, Mathes et al. 2004). Die moderne Technik nutzte auch Sciubba für die Analyse exfolierter Zellen auf Hinweise von Malignität wie Veränderungen des Zell- und Kerndurchmessers mit Hilfe des OralCDx[®] (Sciubba 1999). Zusätzliche Färbemethoden wie die AgNOR- Färbung können genutzt werden, um NORs (Nukleus- organisierende Regionen) mit Silbernitrat sichtbar und quantitativ bestimmbar zu machen. Ihre Anzahl steigt proportional mit der Zellteilungsrate und ist ein Indikator für eine maligne Transformation (Rajput und Tupkari 2010). Ein weiterer Indikator ist eine erhöhte Exprimierung von Laminin 332, die in Tumorzellen über immunzytochemische Färbung dargestellt werden kann (Driemel, Dahse et al. 2007).

3.5.2. Konventionelle Zytologie

Die allgemeinen Anforderungen an eine gute Färbung sind:

- Identifikation des Chromatins und Inhalt des Nukleus
- guter Kontrast zwischen den Komponenten des Nukleus und des Zytoplasmas
- ausreichende Transparenz des Zytoplasmas

Im Speziellen gelten als konventionelle Färbemethoden der Bürstenzytologie die Färbung nach Papanicolaou (PAP), die ihren Einsatz zunächst in der Gynäkologie fand, und die klassische Hämatoxylin und Eosin- Färbung (HE). Sie werden zur Darstellung der Zellkerndetails empfohlen. Weitere Färbungen sind die nach May Grünwald Giesma (MGG) und Wright Giesma, die das Zytoplasma und leukozytäre Granula besser hervortreten lassen. Als Richtlinie gilt, dass feucht- fixierte Proben mit

nach PAP und HE und luftgetrocknetes Material mit den Giesma- basierten Methoden gefärbt werden sollten.

Die Anwendung spezieller Färbemethoden ist ergänzend zur weiterführenden Diagnostik möglich. Dazu gehört die Darstellung von Pilzen mit der Perjodsäure-Schiffsches Reagenz (PAS)- Färbung.

Mittlerweile kann mit erweiterten Analysemethoden auch die Suche nach viraler DNA und genetischen Änderungen ausgebaut werden. Bei zervikalen und oralen Exfoliativpräparaten dient das hauptsächlich dem Nachweis von HPV- Genotypen (Sheaff und Singh 2012).

Das gewonnene Zellmaterial sollte von einem oralpathologisch bzw. zytopathologisch spezialisierten Pathologen mikroskopisch untersucht werden (Ebhardt und Schmidt-Westhausen 2010). Das Zellgut wird auf architektonische und zytologische Anomalien (siehe Kapitel 2.4. „Epitheldysplasie der Mundschleimhaut“) untersucht. Hierbei kann die Anwesenheit von Dysplasien oder malignen Veränderungen festgestellt, nicht aber graduiert werden.

Des Weiteren werden Hinweise auf pathologische Para- und Hyperorthokeratosen mit den Angaben der Entnahmeregion des Klinikers verglichen.

3.5.3. Oral CDx[®] - Die Computerassistierte Auswertung

Das Set der computerassistierten Auswertung ähnelt dem für die angewandte konventionelle Zytologie. Für die Probenentnahme werden je eine Bürste und ein Glasobjektträger geliefert. Die Zellgewinnung verläuft identisch. Auch die Bürste wird im Anschluss daran in einem Plastikröhrchen mit Fixationsflüssigkeit (4%ige Formalin-Lösung) verstaut und zusammen mit dem Begleitschein zum Kunststoffbehälter in einen frankierten Umschlag gesteckt. Dieser wird nach Reutlingen in das deutschlandweit einzige CDx[®]- lizenzierte Labor gesendet, in der alle Proben der Bundesrepublik ausgewertet werden.

Auch die in der mitgeschickten Bürste haftenden Zellen werden nach Anfertigung eines Ausstriches in Paraffin fixiert und sind für ergänzende immunhistologische und molekularbiologische Analysen verwendbar. Diese Zusatzuntersuchung wird nur im deutschen CDx[®]- Labor angeboten (Volmajer 2012).

Das computergestützte Analyseverfahren hat seinen Ursprung in den Oral CDx[®]- Laboratories in Suffern, NY, USA. Grundlage ist die Auswertung eines digitalisierten Mikroskopbildes, in dem dargestellte Zellen auf abnorme Zellmorphologie und

Keratinisierung als Zeichen für Dysplasie oder Malignität gescannt werden. Die 192 am stärksten von der Norm abweichenden Zellen werden dann einem Pathologen auf einem hochauflösenden Farbmonitor in einer Galerie präsentiert. Der speziell fortgebildete Pathologe bewertet und interpretiert die präsentierten Zellen und gibt eine abschließende Diagnose. Diese erfolgt durch Einteilung des Ergebnisses in vier Kategorien:

1. negativ: keine epithelialen Abnormitäten
2. atypisch: abnorme epitheliale Veränderungen
3. positiv: dysplastische oder maligne Veränderungen
4. nicht ausreichendes Zellmaterial: nicht für eine Analyse verwendbar (Sciubba 1999)

Sensitivitäten werden mit Werten zwischen 71,4% und 92,3 % angegeben, während die Spezifität zwischen 32% und 100% liegt (Scheifele, Schmidt-Westhausen et al. 2004, Volmajer 2012).

3.5.4. DNA- Zytometrie

Die Grundlage dieser Methode ist die Annahme, dass chromosomale Aneuploidie als Marker erhöhter Wahrscheinlichkeit der malignen Transformation von Zellen fungieren kann (Bradley, Odell et al. 2010). Diese numerische Chromosomenaberration äußert sich in einem Gewinn oder Verlust ganzer Chromosomensätze oder einzelner Chromosomen zum üblichen Satz, was sich in einem Plus oder Minus von mehr als 10% der DNA- Masse im Zellkern in einer wachsenden Zellpopulation (sogenannte Stammlinien- Aneuploidie) oder in einem extrem hohen Wert einzelner Zellen (sogenannte Einzelzellen- Aneuploidie) äußert (Böcking, Sproll et al. 2011). Es zeigt sich im DNA-Histogramm einer normalen, nicht proliferierenden Zelle ein Häufigkeitsgipfel bei 2c (content), während bei einer normalen, proliferierenden Zelle ein zweiter bei 4c (G0/ G1- bzw. G2/M- Phase des Zellzyklus) hinzukommt. Somit ist bei Werten von $<1,80c$, $>2,20c$ bzw. $<3,60c$, $>4,40c$ mit einer signifikanten Abweichung vom Normalwert zu rechnen und diese Stammlinie ist als aneuploid zu betrachten. Weiterhin gilt der Nachweis einzelner Zellen mit einem DNA- Gehalt von mehr als 9c als Hinweis auf maligne entartete Plattenepithelzellen (Remmerbach, Mathes et al. 2004). Die Ergebnisse werden über die fotometrische Messung der integrierten optischen Dichte der Zellkerne nach der quantitativen Färbung der darin enthaltenen DNA durch die Methode nach Feulgen gewonnen (Böcking, Giroud et al. 1995). Als Referenz

dienen hierbei 30 als normal klassifizierte Plattenepithelzellen (sogenannte Analysezellen). Mit ihnen werden, falls vorhanden, mindestens 300 atypische oder dysplastische Zellen verglichen (Remmerbach, Meyer-Ebrecht et al. 2009).

Diese Methode wurde international standardisiert und ist nicht beschränkt auf zytologische Präparate, sondern lässt sich auch auf Formalin-fixierte und in Paraffin gebettete Präparate nach histologischer Untersuchung übertragen (Bradley, Odell et al. 2010). Das macht es möglich die Resektionsränder einer klinisch suspekten Läsion oder eines Plattenepithelkarzinoms auf klinisch nicht sichtbare Veränderungen des DNA- Satzes zu untersuchen, um die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs abschätzen zu können.

Die Sensitivität der konventionellen zytologischen Auswertung konnte mit Hilfe der DNA- Zytometrie auf 95,5 % (Remmerbach, Mathes et al. 2004) bzw. 100% (Maraki, Becker et al. 2004) gesteigert werden. Ebenso die Spezifität, die von anfänglich 95,5% auf 100% (Remmerbach, Mathes et al. 2004) bzw. 97,4% (Maraki, Becker et al. 2004) gesteigert werden konnte.

3.5.5. Immunzytochemie

Das Prinzip der immunzytochemischen Färbung beruht auf der Antigen- Antikörper-Verbindung spezifischer Strukturen mit dem entsprechenden Farbstoff.

Eine Möglichkeit bietet die Darstellung der $\gamma 2$ -Kette des Laminin 332 (früher Laminin 5), ein Bestandteil der Basalmembran, der in malignen Zellen oraler Läsionen vermehrt produziert wird. Ursprünglich dient die gesamte Struktur des Laminin 332 mit $\alpha 3$, $\beta 3$ und $\gamma 2$ - Ketten der Verankerung der oralen Mukosa mit dem darunter liegenden Gewebe. Allerdings kann die vermehrte Produktion der $\gamma 2$ -Kette den Prozess ins Gegenteil verkehren und zu einer vermehrten Invasion und Metastasierung des Tumorgewebes führen (Driemel, Dahse et al. 2007, Zargarán, Eshghyar et al. 2011).

Tenascin 5, eine hochmolekulare Glykoproteinkette, wird direkt von Tumorzellen produziert und ist für einen invasiv wachsenden Phänotyp verantwortlich (Wang, Han et al. 2010). Es ist auch in zytologischen Abstrichen nachweisbar (Driemel, Kosmehl et al. 2007) und kann zur Diagnoseergänzung herangezogen werden.

3.5.6. Sensitivität und Spezifität der Bürstenzytologie

In den Niederlanden betrachteten Siebers et al. (Siebers, van de Winkel et al. 2013) die DNA- Zytometrie im Vergleich mit der konventionellen Skalpellbiopsie. In ihre Studie

bezogen sie sowohl benigne und prämaligene als auch maligne Läsionen mit ein. 50% der nicht- diploiden Läsionen konnten mit einer entsprechenden Spezifität von 80% identifiziert werden. Dennoch kamen sie zu dem Schluss, dass die Bürstenzytologie zwar ergänzend zum Monitoring nicht aber zum Ersatz der chirurgischen Biopsie zum Einsatz kommen kann.

Mithilfe einer harten Kleinkind- Zahnbürste aus Nylon haben Mehrotra et al. 94 klinisch prämaligene und maligne Läsionen an der Universität Allahabad, Indien, untersucht (Mehrotra, Singh et al. 2008). An derselben Läsion wurde eine Skalpellbiopsie durchgeführt, die dann histopathologisch aufbereitet und mit den Ergebnissen der Zytologie verglichen wurde. Jeweils zwei unabhängige Zytopathologen und Pathologen untersuchten doppelblind die nach Papanicolaou und HE gefärbten Biopate, während bei Diskrepanzen eine dritte Meinung hinzugezogen wurde. 15% des gewonnenen Zellmaterials in der Kleinkind- Zahnbürste waren unzureichend und wurden ausgeschlossen. Von den verbliebenen 76 Fällen waren histologisch 53,6% benigne (Erythroplakie, nicht- dysplastische Leukoplakie, orale submuköse Fibrose), 13,1% dysplastisch und 33,3% maligne. Im Vergleich zur Zytologie entsprach das einer Sensitivität von 76,8% und einer Spezifität von 93,3%. Allerdings wurden 4 falsch negative Ergebnisse beobachtet, von denen alle Läsionen klinisch als orale submuköse Fibrosen erschienen.

In der MKG- chirurgischen Abteilung der VU Universität in Amsterdam, Niederlande, untersuchten Bremmer et al. 157 mit einer Einwegbürste gewonnene Proben von 25 Patienten, die klinisch sichtbare Leukoplakien aufwiesen (Bremmer, Graveland et al. 2009). Von 17 Patienten wurde eine Skalpellbiopsie entnommen. Von 20 Kontrollpatienten jünger als 30 Jahre, Nichtraucher und ohne exzessiven Alkoholkonsum wurden exfoliativ 140 Proben von 7 Regionen mit erhöhtem Transformationsrisiko und einer „low-risk“ Region (Gaumen) entnommen. Die DNA der gesammelten Zellen wurde mithilfe von Mikrosatelliten auf ein Ungleichgewicht der Allele bzw. Verlust der Heterozygotie an den Chromosomen 3p, 9p, 11q und 17p untersucht.

Bei klinisch intakter Schleimhaut wurde keine Skalpellbiopsie durchgeführt.

Zwei unabhängige Wissenschaftler führten die Begutachtung des Datensatzes durch. In den Proben der 20 Kontrollpatienten wurden keine auffälligen Befunde beobachtet, was

zu einer Spezifität von 100% führt. Die Sensitivität wird mit 78% angegeben. Der positive Vorhersagewert liegt bei 100%. Die Autoren sind sich einig, dass die chirurgische Biopsie bei Leukoplakien nach wie vor Goldstandard bleibt. Die Exfoliativzytologie mit Aufarbeitung der DNA kann genutzt werden, um klinisch sichtbare Läsionen zu identifizieren und genetisch zu gradieren. Es ist ein Hilfsmittel bei der Beobachtung im Follow-up und kann zur Lokalisation der richtigen Stelle einer Biopsie dienen.

Kämmerer et al. (Kämmerer, Koch et al. 2013) untersuchten an der Universität in Mainz 88 klinisch suspekten, nicht malignen erscheinenden Läsionen an 70 Patienten. Sie nahmen pro Läsion 4 Proben mit je einer Cytobrush[®] und eine Inzisionsbiopsie. Die Evaluation der Proben erfolgte durch zytologische Begutachtung, DNA-Bildzytometrie und Histologie. Hierbei konnte die konventionelle Zytologie nur eine Sensitivität von 55% erreichen, während die Spezifität bei 100% lag. Der positive Vorhersagewert lag bei 100% und der negative Vorhersagewert bei 80%. In Kombination mit der DNA-Zytometrie konnte der negative Vorhersagewert und die Sensitivität auf 89% bzw. 77% gesteigert werden. Dennoch ist sich die Arbeitsgruppe einig, dass die Bürstenzytologie als Screeningmethode durch die DNA-Zytometrie lediglich ergänzt werden kann und nicht zum Verifizieren klinisch maligner Mundschleimhautläsionen genutzt werden sollte.

Basierend auf dem Anspruch, dass die Bürstenzytologie ein Hilfsmittel in der Frühdiagnostik maligner Prozesse sein soll, untersuchten Koch et al. (Koch, Kunkel et al. 2011), wie sich die Sensitivität und Spezifität ändert, wenn Plattenepithelkarzinome, die größer als 20 mm sind, nicht in die errechnete Statistik mit einbezogen werden. Hierzu nahmen sie eine Probe mit der Cytobrush[®] Plus GT und eine Exzisionsbiopsie, die als Referenz dienen sollte. Nach der Untersuchung der 182 Abstriche konnte für die Untersuchung auf Vorhandensein dysplastischer und maligner Veränderungen eine Sensitivität von 95,2% und eine Spezifität von 83,3% errechnet werden. Nach dem Ausschluss größerer Karzinome verringerte sich die Sensitivität auf 92,7% während die Spezifität auf 92,3% anstieg. Der positive und negative Vorhersagewert lagen bei 74,5% und 95,6%. Sie stellten fest, dass die Werte in Abhängigkeit von der gewählten Klassifikation und Färbemethoden der Proben differieren können.

In Dharwad, Indien untersuchten Babshet et al. (Babshet, Nandimath et al. 2011) mit einer handelsüblichen mittelharten bis harten Nylonzahnbürste entnommene zytologische Abstiche und verglichen sie mit einer Stanzbiopsie aus derselben Läsion. Bei insgesamt 67 Patienten konnten klinisch 32 benigne Läsionen, zu denen Leukoplakien, Erythroplakien, aktinische Cheilitis, palatinales Erythem und erosiver Lichen planus zählten, und 35 Plattenepithelkarzinome diagnostiziert werden. Die Arbeitsgruppe musste 11 falsch negative Fälle feststellen und verzeichnete eine Sensitivität von 77% und eine Spezifität von 100%. Der negative prädiktive Wert lag bei lediglich 38%, während der positive Vorhersagewert 100% erreichte.

2009 führten Remmerbach et al. (Remmerbach, Meyer-Ebrecht et al. 2009) Untersuchungen an 47 Patienten durch. Mit den zytologischen Abstrichen, die nach Papanicolaou gefärbt und von erfahrenen Zytopathologen gesichtet worden sind, wurden die Sensitivität und Spezifität mit 100% und 92,6% errechnet. Der positive und negative prädiktive Wert lagen bei 90,9% und 100%. Durch die weiterführende Diagnostik mithilfe der DNA- Zytometrie sank die Sensitivität zwar um 10%, aber die Spezifität konnte auf 100% gesteigert werden. Histologisch wurden 20 Plattenepithelkarzinome, 7 Leukoplakien und in 20 Fällen ein OLP nachgewiesen. Die Autoren waren sich einig, dass die Bürstenzytologie lediglich zur Überwachung von Leukoplakien ohne Dysplasien, Erythroplakien und OLP genutzt werden sollte und ein Hilfsmittel in der „(Früh-) Erkennung oraler Plattenepithelkarzinome“ sein kann.

Im Jahr 2004 untersuchte eine Studiengruppe um Remmerbach 1328 Abstriche, die von 205 Patienten entnommen wurden (Remmerbach, Mathes et al. 2004). Das Zellmaterial wurde auf einer speziellen Bürste gesammelt und einem Zytopathologen zur Begutachtung vorgelegt. Anschließend wurden die Proben nach Feulgen gefärbt und der DNA- Bildzytometrie zugeführt. Die Ergebnisse wurden mit Gewebeproben der gleichen Areale verglichen. In der konventionellen Zytologie erschienen 208 Proben sicher negativ, 27 ohne sicheren Nachweis und lediglich 2 mit dringendem Verdacht auf maligne Zellen. Drei waren sicher positiv. Das führte zu einer Sensitivität von 91,3% und einer Spezifität von 95,1%. Positiver und negativer Vorhersagewert lagen bei 95,4% und 92,3%. In der DNA- Zytometrie fand die Arbeitsgruppe 68 sicher positive und 16 Proben mit dringendem Verdacht auf transformierte Zellen. So erreichte die Kombination beider Methoden eine auf 97,8% gesteigerte Sensitivität und eine

Spezifität von 100%. Histologisch wurden 92 Plattenepithelkarzinome, 93 Leukoplakien und 142 benigne Mundschleimhautveränderungen festgestellt.

Driemel et al. (Driemel, Kunkel et al. 2008) konzentrierten sich in ihrer Studie auf die konventionelle Bürstenzytologie. Zu ihrem Patientenkollektiv von 169 Personen zählten 79 Frauen und 90 Männer. Die Abstriche wurden mit der Cytobrush[®] Plus GT durchgeführt und nach mehrstündiger Lufttrocknung mit Aceton fixiert. Ein spezialisierter Pathologe übernahm die Auswertung. Der Vergleich mit den histologischen Befunden führte zu 7 falsch positiven und 13 falsch negativen Ergebnissen. Somit ergaben sich sowohl für den negativen als auch für den positiven Vorhersagewert 88%. Die Sensitivität ist mit 79% und die Spezifität mit 93% angegeben worden.

Das Oral CDx[®]- Auswertungssystem wurde von Scheifele et al. 2004 am Zentrum für Zahnmedizin der Charité Universitätsmedizin zu Berlin untersucht. Die Arbeitsgruppe nahm von 80 Patienten 108 Bürstenzytologien und ließ diese im deutschen Oral CDx[®]-Center auswerten (Scheifele, Schmidt-Westhausen et al. 2004). Es handelte sich klinisch entweder um orale Leukoplakien, OLP oder eine karzinomverdächtige Läsion, die auch invasiv biopsiert wurden. 6,8% der Abstriche stellten sich als inadäquat heraus und wurden von der Wertung ausgeschlossen. Die restlichen Präparate wurden in der Zytologie als positiv gewertet, wenn die Zellen atypisch oder „positiv für Dysplasie oder Plattenepithelkarzinom“ erschienen. So konnte die Arbeitsgruppe in ihrer Studie eine Sensitivität von 92,3% und eine Spezifität von 94,3% herausarbeiten.

In ihrer Publikation betrachteten Genüri et al. (Güneri, Epstein et al. 2011) 43 Läsionen mit zwei ergänzenden Untersuchungsmethoden, die Bürstenzytologie und Toluidinblau-Färbung, und verglichen diese mit den Ergebnissen von Biopsien. In die Studie wurden Patienten mit homogenen und inhomogenen Leukoplakien, retikulärem oder ulzerösem bzw. erosivem OLP und Ulzerationen mit Karzinomverdacht inkludiert.

Die Sammlung der Ergebnisse lief jeweils unabhängig von dem Ergebnis der anderen Methoden. Zellen wurden mit der Cytobrush[®] gesammelt und der Ausstrich als maligne, atypisch (suspekt) oder benigne klassifiziert. Für die Bürstenzytologie lagen die Sensitivität und der negative prädiktive Vorhersagewert mit 92,3% und 93% wesentlich höher als die Spezifität und der positive Vorhersagewert mit 51,7% und 46,2%.

3.5.7 Indikation

Im Allgemeinen können mithilfe der Exfoliativzytologie Aussagen zu Entzündungen, Vorhandensein von Mikroorganismen, Verhornungsstörungen und Dysplasien getroffen werden.

Im Speziellen ist die Anwendung der Bürstenzytologie sinnvoll, wenn Restunsicherheiten bezüglich einer klinisch als unauffällig imponierenden Mundschleimhautläsion abgeklärt werden sollen (Böcking, Sproll et al. 2011), wie beispielsweise der Ausschluss von Dysplasien in homogenen Leukoplakien. Sind klinisch inhomogene, erythroplake oder maligne Anteile der Veränderung erkennbar, sollte von der Zellgewinnung mittels Bürste abgesehen und eine chirurgische Biopsie genommen werden.

Wurden durch eine histologische Untersuchung ein OLP oder eine homogene Leukoplakie ohne Dysplasien nachgewiesen, so kann eine halbjährliche Verlaufskontrolle mittels Bürstenzytologie ergänzend zur klinischen Überwachung erfolgen (Kunkel, Bengel et al. 2010).

Besteht klinisch der Verdacht auf eine Candidainfektion bzw. -superinfektion einer bestehenden Mundschleimhautläsion, kann diese zusätzlich verifiziert bzw. der Therapieerfolg in einer Verlaufskontrolle überwacht werden.

3.5.8. Klinische Anwendung

Das verwendete Set sollte Bürsten für die Probeentnahme, Glasobjektträger, auf denen seitlich die Daten zur Patientenidentifikation mit einem Bleistift vermerkt werden können, und Kunststoffbehälter zum sicheren Verstauen der Glasplättchen beinhalten.

Die Bürste (z.B. Cytobrush[®]Plus, Cooper Surgical, Trumbull, CT, USA) wird mit leichtem Druck, so dass sich der Stiel leicht durchbiegt, und gleichzeitiger Rotation mehrfach über die zu untersuchende Läsion geführt. Pro Läsion sollte je eine Bürste verwendet werden. Anschließend wird das gewonnene Zellmaterial durch Abrollen der Bürste mit einer Drehung um 360° auf den Objektträger übertragen. Dieser Vorgang sollte an verschiedenen Stellen des Objektträgers 6- 8-mal wiederholt werden. Nun wird aus ca. 25 cm Abstand Fixationsspray (z.B. Merckofix Fixationsspray, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) auf den Objektträger gesprüht, bis ein ausreichender Flüssigkeitsfilm entstanden ist. Dies sollte bald nach der Zellentnahme geschehen, um ein Austrocknen des Untersuchungsmaterials zu verhindern (Remmerbach, Mathes et al. 2004, Driemel, Kunkel et al. 2008). Der Objektträger sollte für ungefähr 15 Minuten

waagrecht gelagert trocknen, bis er im mitgelieferten Kunststoffbehälter für den Transport sicher verstaut wird. Der beiliegende Begleitschein (siehe Kapitel 10 „Anhang“, Abb. 1) wird um anamnestische und klinische Daten ergänzt und mit den Proben in einem frankierten Umschlag zur Begutachtung an einen spezialisierten Pathologen gesendet.

3.6. Weitere Screening- Methoden

3.6.1 Klinische Untersuchung

Die einfachste und kostengünstigste Variante der Karzinomprävention ist die makroskopische Untersuchung der Mundschleimhaut und angrenzender Strukturen im Rahmen der halbjährlich stattfindenden zahnärztlichen Untersuchung. Dies sollte vor allem bei Risikogruppen durchgeführt werden (Brocklehurst, Kujan et al. 2010). Es wird empfohlen, die Inspektion anhand eines routinierten Schemas nach dem Entfernen von herausnehmbarem Zahnersatz auszuführen, wodurch verhindert wird, dass Strukturen nicht angesehen und Läsionen nicht erfasst werden. Durch die Nutzung von zwei Spiegeln kann der Forderung nach Sorgfalt ferner Folge geleistet werden. In jedem Falle sollte eine Palpation der Mundschleimhautläsion erfolgen, um Auskunft über die Beschaffenheit geben zu können. Alle auffälligen Befunde müssen mit Angabe der genauen Lokalisation in der Patientenkartei standardisiert notiert werden. Nur so können im Follow-up Veränderungen detektiert werden (Schmidt- Westhausen 2002). Der Nutzen für die allgemeine Bevölkerung kann im Gegensatz zu Risikogruppen nicht evidenzbasiert festgehalten werden. Dennoch sollte die systematische Untersuchung der Mundhöhle in die tägliche Arbeitsroutine des Untersuchers integriert werden (Brocklehurst, Kujan et al. 2010).

3.6.2 Toluidinblau

Toluidinblau ist ein diagnostisches Hilfsmittel, das zur Intravitalfärbung von potentiell malignen bzw. malignen Läsionen genutzt wird. Der kationische, metachromatische Farbstoff bindet selektiv an saure Zellelemente, wie Desoxyribonukleinsäure, und verbleibt möglicherweise auch im intrazellulären Raum von dysplastischen Zellen.

Überall dort, wo entzündliche, regenerative oder neoplastische Prozesse stattfinden, weisen die Zellen eine rasche Teilungsrate und damit einhergehend einen erhöhten DNA- Gehalt auf, der mithilfe des Toluidinblau dargestellt werden kann (Awan, Yang et al. 2012).

Die Toluidinblaulösung wird mit einem Watteträger oder Schwamm auf das zu untersuchende Areal aufgetragen und nach 1 bis 2 Minuten Einwirkzeit mit 2%iger Essigsäure wieder entfernt. Da eine verschobene Kern- Plasma- Relation nicht nur bei maligne transformierten, sondern auch bei hyperplastisch und inflammatorisch veränderten Gewebe zu einer Anreicherung des Farbstoffes führt, kommt es zu hohen falsch- positiven Werten (Epstein und Guneri 2009, Hullmann, Kunkel et al. 2010).

Da schwankende Werte der Sensitivität von 38- 98% und für die Spezifität von 9- 93% (Patton, Epstein et al. 2008, Awan, Yang et al. 2012) angegeben werden, ist diese Methode als unterstützendes Utensil in der Praxis nicht sehr verbreitet (Kunkel, Bengel et al. 2010).

3.6.3 5- Aminolävulinsäure (5- ALA)

Die fotodynamische Diagnostik nutzt die Wirkung der 5- Aminolävulinsäure (5- ALA) auf Tumorzellen. Sie reagieren nach exogener Zufuhr der 5- ALA mit Anreicherung des endogenen, stark fluoreszierenden Protoporphyrinogen IX (Pp IX). Nach 20- minütiger Spülung mit einer 5- ALA- Lösung und drei Stunden Einwirkzeit werden mit blauvioletttem Licht (380- 440nm) die angereicherten Moleküle zur Fluoreszenz angeregt (Leunig, Rick et al. 1996, Schleier, Berndt et al. 2004). Bevor die 5- ALA- Lösung appliziert wird, muss eine professionelle Zahnreinigung durchgeführt werden, da auch bestimmte Bakterienstämme Pp IX bilden können und somit die Gefahr eines falsch- positiven Ergebnisses erhöhen. Ein weiteres Problem kann hinzukommen, wenn Patienten die empfohlene vierstündige Nahrungskarenz nicht einhalten, da Glukose als ein Störfaktor in der Pp IX- Bildung gilt. Bei vorangegangener Radiatio im orofazialen Bereich konnte ebenfalls eine erhöhte Bereitschaft zur Fluoreszenz festgestellt werden, sodass hier (falsch-) positive Ergebnisse hinterfragt werden sollten (Schleier, Berndt et al. 2004, Hullmann, Kunkel et al. 2010).

Wegen des hohen Zeitaufwands und der Sensibilität in der Durchführung hat sich diese Methode in der Praxis nicht durchsetzen können.

3.6.4 Autofluoreszenz

Endogene Fluorophore, wie Flavin, Tryptophan, Elastin und Kollagen können durch Licht bestimmter Wellenlänge angeregt werden und fluoreszieren. In der Diagnostik oraler neoplastischer Prozesse wird Flavin genutzt, das in normalen Zellen in der aeroben Glykolyse zu finden ist. In neoplastischen Zellen geht die Glykolyse anaerob

vonstatten, weshalb diese Stellen intraoral als dunkler Fleck erscheinen, während die umgebende Mukosa grün emittiert, wenn sie mit blauem Licht angeregt wird (Baletic, Malicevic et al. 2010).

Der inflammatorisch oder ischämisch beeinflusste Metabolismus der Zelle wirkt sich auch auf oxidative Prozesse aus, wodurch falsch- positive Ergebnisse zustande kommen können.

Bisher fehlen klinische Daten, um eine abschließende Evaluation durchführen zu können (Kunkel, Bengel et al. 2010, Balevi 2011)

3.7. Inzisions- und Exzisionsbiopsie

Aktueller Goldstandard in der Diagnostik klinisch suspekter Läsionen ist die Entnahme einer Gewebeprobe, anschließende histopathologische Aufarbeitung und mikroskopische Befundung (Patton, Epstein et al. 2008). Die Gewinnung der Probe kann mithilfe eines Skalpells oder einer Stanze erfolgen und ist demnach ein invasiver, chirurgischer Eingriff. Grundsätzlich kann man zwei Methoden unterscheiden: Die Exzisions- und die Inzisionsbiopsie. Erstere wird für Läsionen mit einer Ausdehnung bis zu 1 cm oder mit einer inhomogenen Oberfläche empfohlen. Hierbei wird die gesamte Läsion in toto im klinisch gesunden Gewebe entfernt. Eine Inzisionsbiopsie wird durchgeführt, wenn der klinisch sichtbare Defekt größer als 1 cm ist (Kunkel, Bengel et al. 2010). In diesem Falle sollte von einer oder mehreren repräsentativen Stellen eine Probe genommen und ausgewertet werden.

Indikationen für eine Biopsie der Mundschleimhaut (Reichart 2000, Reichart 2007, Kunkel, Bengel et al. 2010, Volmajer 2012):

- Verdacht auf ein manifestes Karzinom (Biopsie in Fachklinik)
- länger als 3 Wochen persistierende Ulzerationen unklarer Genese
- zytologisch verifizierte Epitheldysplasien (Graduierung)
- auf Dysplasien negativer zytologischer Befund aber fortschreitende Läsion
- durch Zytologie nicht sicher auszuschließende Atypien
- Veränderungen, die nicht auf Therapien ansprechen
- persistierende bzw. therapieresistente weiße Mundschleimhautveränderungen

3.8 Die s2k- Leitlinie der DGZMK zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms

Leitlinien sind systematisch entwickelte, wissenschaftlich begründete und praxisorientierte Entscheidungshilfen für die angemessene ärztliche Vorgehensweise bei speziellen gesundheitlichen Problemen (Cox, Kopp et al. 2007).

Sie entstehen im Konsens mehrerer Experten aus unterschiedlichen Fachbereichen und Arbeitsgruppen und dienen als Entscheidungshilfen mit einem gewissen Spielraum, der es erlaubt, in bestimmten begründeten Situationen abzuweichen (Kopp 2010).

Die Erarbeitung einer Leitlinie unterliegt Kriterien zur Qualitätssicherung und methodischen Empfehlungen, die im Deutschen Leitlinien-Bewertungs-Instrument (DELBI) im Sinne einer Checkliste zusammengefasst werden. Eine erstellte Leitlinie sollte regelmäßig auf Aktualität überprüft und bei Bedarf fortgeschrieben werden (Cox, Kopp et al. 2007).

Eine Leitlinie sollte nicht nur Zugang zur aktuellen Evidenz eines bestimmten Themas für Ärzte bieten, sondern auch Patienten und Angehörige anderer Gesundheitsberufe informieren können.

Eine Leitlinie, die unter die s2k-Klassifizierung fällt, wird auf der Grundlage systematischer Aufarbeitung von Expertenwissen erarbeitet und gilt als konsensbasierte Leitlinie. Experten sind Vertreter betroffener Fachgesellschaften und/oder Organisationen, einschließlich Vertretern der Patienten. Ein neutraler Moderator begleitet die Diskussion und Abstimmung jeder Empfehlung im Rahmen der strukturierten Konsensfindung (Muche-Borowski und Kopp 2011). Leitlinien beinhalten Formulierungen klarer Handlungsempfehlungen und unterscheiden sich dadurch von anderen Übersichtsarbeiten, klinischen Studien und Evidenzberichten.

Am 01.03.2010 wurde die s2k- Leitlinie zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms von der DGZMK herausgegeben (Kunkel, Bengel et al. 2010). Die Autoren empfehlen zweimal jährlich eine systematische Untersuchung der Mundschleimhaut, Lippen und angrenzender Gewebe vorzunehmen. Bei Karzinomverdacht wird eine sofortige Überweisung an Spezialisten in einer Mund- Kiefer- Gesichtschirurgische- Klinik zur weiterführenden Diagnostik und Therapie gefordert. Besteht Verdacht auf eine Vorläuferläsion, gilt es diesen durch eine histologische Untersuchung zu verifizieren. Das ist der Fall, wenn die Läsion nach zwei Wochen Beobachtung oder Therapie keine Rückbildungstendenz zeigt. Konnte in der Kontrolluntersuchung eine Rückbildung festgestellt, aber nach weiteren zwei Wochen

Beobachtungszeit keine vollständige Ausheilung verzeichnet werden, gilt es diese Läsion ebenfalls histologisch abzuklären. Hierzu wird die repräsentative Inzisions- bzw. gegebenenfalls Exzisionsbiopsie nach wie vor als Goldstandard aufgeführt.

Die orale Bürstenzytologie findet Anwendung in der Untersuchung von Läsionen, bei denen primär keine Indikation für eine Biopsie besteht, aber dennoch bezüglich der Dignität abgeklärt werden sollen oder als Hilfsmittel bei Verlaufskontrollen. Zu diesen Läsionen zählen klinisch homogene, histologisch benigne oder gering dysplastische Veränderungen. Zellen aus mittleren und tiefen Epithelschichten können so gewonnen werden.

Es wird nahe gelegt, die Verlaufskontrollen für nicht dysplastische Leukoplakien halbjährlich durchzuführen. Sind allerdings Dysplasien nachgewiesen worden, sollte das Kontrollintervall auf drei Monate reduziert werden. Patienten mit einem OLP wird empfohlen sich alle vier Monate bei ihrem behandelnden Arzt vorzustellen.

Nach den Handlungsempfehlungen wurde von den Autoren ein Algorithmus entwickelt, nach dem der untersuchende Zahnarzt bei einer auffälligen Mundschleimhautveränderung handeln soll (siehe Kapitel 10 „Anhang“, Abb.2). Bei einer erkennbaren Ursache wird u. a. vorgeschlagen, mithilfe der Bürstenzytologie und Kontrolluntersuchungen nach Ursachenbeseitigung eine Rückbildung bzw. zytologische Auffälligkeiten zu überwachen. Nur bei unverdächtiger Zytologie und Rückbildungstendenz wird von der Überweisung in eine Fachklinik abgeraten. Sobald beide Kriterien nicht erfüllt werden, empfiehlt es sich, den Rat eines spezialisierten Oral- oder Kieferchirurgen hinzuzuziehen. Bleibt eine vollständige Rückbildung aus, folgt die pathologische Abklärung mittels einer Biopsie (Kunkel, Bengel et al. 2011).

4. Herleitung einer Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden retrospektiven Studie war es, die Arbeitsroutine praktizierender deutscher Zahnärzte im Umgang mit Bürstenzytologien vor und nach Veröffentlichung der s2k- Leitlinie der DGZMK zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms zu überprüfen und gegebenenfalls Schwachstellen aufzudecken.

Als Hauptkriterium für die korrekte Anwendung wurde die Indikationsstellung des behandelnden Arztes gewählt.

Es wird angenommen, dass nach der Veröffentlichung der Leitlinie im Jahr 2010 die Anzahl der durch den Anwender korrekt gestellten Indikationen zunimmt.

5. Patienten und Methoden

5.1 Patienten

Die Patientendaten der vorliegenden Studie wurden über einen Zeitraum von drei Jahren betrachtet, beginnend mit dem 2. Quartal 2009 bis einschließlich 1. Quartal 2012.

Es wurden alle Einsendungen von Bürstenzytologien an das Zentrum für Oralpathologie in Potsdam (Zentrum für Oralpathologie, Friedrich-Ebert-Str. 33-34, 14469 Potsdam, Deutschland) mit einbezogen. Auch Kontrolluntersuchungen und daraus resultierende doppelte Patientendaten wurden in die Auswertung eingeschlossen, da lediglich die Indikationsstellung des behandelnden Arztes von Bedeutung war und nicht die Zusammensetzung des Patientenkollektivs. Ergebnisse nachfolgender Untersuchungen, wie die histologische Auswertung einer Skalpellbiopsie nach Empfehlung durch den Pathologen wurden nicht mit berücksichtigt.

5.2 Patienten- Basisdaten

Die Daten wurden den ausgefüllten Begleitscheinen eingesandter Proben entnommen, die jedem Bürsten- Kit (oralpath mucosa test_{TM} der oralpath GmbH, Deutschland) beilagen.

Die folgenden Daten wurden, sofern sie vom Kliniker angegeben wurden, erhoben:

- Geschlecht
- Alter bei Probeentnahme
- Lokalisation der Entnahmestelle(n)
- aus der klinischen Verdachtsdiagnose resultierende Indikation
- Wertung der Indikationsstellung (korrekt/ inkorrekt)
- Nikotinkonsum
- Alkoholkonsum
- Ergebnisse der zytologischen Untersuchung

Da alle Patientendaten retrospektiv erhoben wurden, waren die Ärzte zum Zeitpunkt der Probeentnahme und auch danach nicht über die Auswertung der angegebenen Daten informiert, so dass eine Sensibilisierung im Entnahmeprozess ausgeschlossen werden konnte. Somit sind die gesammelten Daten repräsentativ für die tatsächliche

Entnahmeroutine eines Querschnitts niedergelassener deutscher Zahnärzte ohne Bezug zu einem Universitätsklinikum. Die Patienten- und Ärztedaten wurden anonymisiert betrachtet. Zum Kollektiv der Untersucher zählten niedergelassene Zahnärzte und Oral- sowie Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgen.

6. Ergebnisse

In dieser Studie wurden insgesamt $n = 1499$ Einsendungen von Bürstenzytologien über einen Zeitraum von drei Jahren betrachtet, beginnend mit dem zweiten Quartal von 2009 und endend mit dem ersten Quartal von 2012. Da jedem Arzt mit dem Bürsten-Kit zwei Cytobrushes[®] (Cytobrush[®]Plus, Cooper Surgical, Trumbull, CT, USA) für die Probengewinnung zur Verfügung standen, kann sich für die Zusammensetzung der Ergebnisse teilweise mehr als 100% bezogen auf die Anzahl der Einsendungen ergeben. In den allgemeinen Betrachtungen für die Punkte „Lokalisation bei Probeentnahme“, „Indikation“ und „zytologische Ergebnisse“ wurden Mehrfachangaben gemacht. Somit ist die Summe der jeweiligen Angaben höher als die der Einsendungen. Daher wurde bei der Ermittlung der Prozentwerte in der Auswertung die Gesamtsumme der Angaben und nicht die Anzahl der Begleitscheine verwendet.

Einsendungen (Tab. 1)

Ab Beginn des Untersuchungszeitraums im Jahr 2009 wurden 298 Bürstenzytologien eingeschickt. Im Jahr 2011 waren es 573 (siehe Tab.1). Seit 2009 ist pro Jahr ein Zuwachs an eingesandten Bürstenzytologien von ca. 15% zu verzeichnen.

Geschlecht (Tab. 2)

Das Patientenkollektiv stellte sich aus 44% Männern ($n = 657$) und 56% Frauen ($n = 841$) zusammen (siehe Tab.2).

Alter (Tab.2, Tab. 3, Tab.4)

Zum Zeitpunkt der Probeentnahme betrug der Medianwert des Alters 58 Jahre (siehe Tab.2). Bei einer Patientin konnte dem Begleitschein keine Angabe zum Alter entnommen werden. Hier wurde aufgrund der Monatsangabe ein Näherungswert ermittelt (Frauen 59 Jahre; Männer 56 Jahre). Ab dem Alter von 50 Jahren wurden häufiger klinische Mundschleimhautveränderungen erkannt als bei jüngeren Patienten (siehe Tab. 3 und 4).

Lokalisation der Entnahmestelle(n) (Tab. 5, Tab. 6)

Es wurden insgesamt 1679 verschiedene klinische Lokalisationen auf den Begleitscheinen angegeben. Am häufigsten mit 30,1% untersuchten die Ärzte

Veränderungen an der Wangenschleimhaut. Fast ebenso oft wurden Abstriche der Gingiva und des Alveolarkamms (25,6%) genommen. An der Zunge (15,1%) und dem Gaumen (11,3%) wurden nahezu gleich viele suspekte Läsionen erkannt. Mundboden, Lippen und sonstige Regionen schienen weitaus weniger häufig betroffen zu sein. Zu sonstigen Regionen wurden extraoral durchgeführte Bürstenabstriche und Angaben zusammengefasst, die keiner spezifischen anatomischen Struktur der Mundhöhle zugeordnet werden konnten (siehe Tab. 5).

Meist wurde nur eine Region benannt, häufig kam eine zweite Angabe hinzu. In seltenen Fällen wurden auch Dreifachnennungen vermerkt (siehe Tab.6).

Klinische Indikation (Tab. 7, Tab. 8, Tab. 9, Tab. 10)

Insgesamt wurden auf den Begleitscheinen 1658 einzelne klinische Fragestellungen mit entsprechender Indikation der zytologischen Untersuchung angegeben (siehe Tab. 7 und Tab. 8). Bei der Betrachtung über vier Jahre ist erkennbar, dass hauptsächlich Leukoplakien (38,5%) untersucht wurden. In rund 14% waren den Begleitscheinen keine bzw. sonstige Angaben zu entnehmen (siehe Tab. 9). Ebenso häufig sollte eine orale Candidiasis oder OLP abgeklärt werden.

Es wurden insgesamt 9,6 Doppelnennungen verzeichnet und 0,5 Dreifachnennungen (siehe Tab. 10).

Wertung der Indikationsstellung (Tab. 11, Tab. 12)

Über den gesamten Untersuchungszeitraum wurden in 60% der zu untersuchenden Proben die richtigen Indikationen seitens des Klinikers gestellt. Eine Aufschlüsselung der angewandten Kriterien ist in Tab. 11 dargestellt.

In ca. 40% der Fälle hätte laut Richtlinie keine zytologische Untersuchung stattfinden sollen (siehe Tab.12). Ein senkrechter Strich markiert den Zeitpunkt der Veröffentlichung der s2k- Leitlinie.

Ergebnisse der zytologischen Untersuchung (Tab. 13, Tab. 14)

Am häufigsten wurden in der zytologischen Untersuchung mit 65,1% Keratosen verschiedenster Ausprägungen nachgewiesen. Bei 16,8% der Zytologien konnte eine orale Candidiasis diagnostiziert werden. Bei 5,7% waren Atypien erkennbar. 4,7% der Ausstriche wiesen Entzündungszellen auf und 2,9% blieben ohne pathologischen

Befund (siehe Tab.13). Sonstige zytologische Befunde sind in Tab. 14 zusammengefasst.

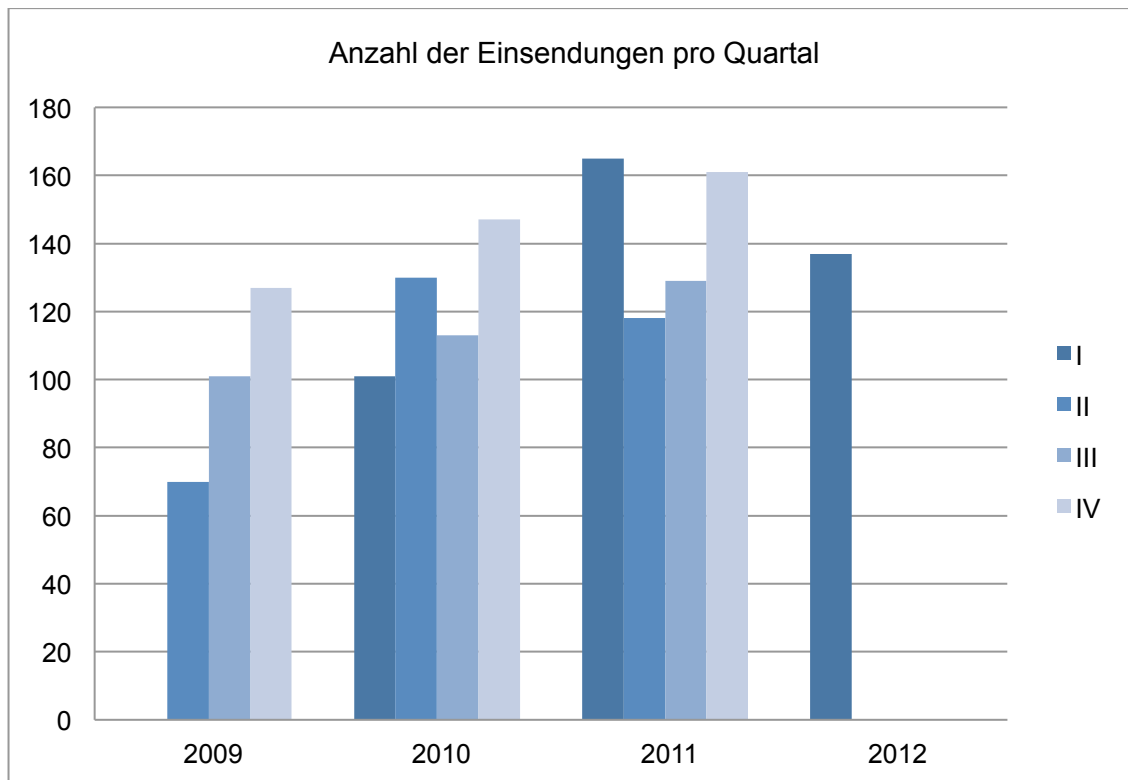
Nikotinkonsum (Tab.15):

18,8% der Ärzte befragten ihre Patienten zu deren Rauchgewohnheiten. Von dem befragten Kollektiv gaben 12,4% an Raucher zu sein. In 81,2 % war dem Begleitschein keine Angabe zum Nikotinkonsum zu entnehmen (siehe Tab.14).

Alkoholkonsum (Tab. 16):

In 1,5% der Fälle wurden Angaben zum Alkoholkonsum der Patienten gemacht. 0,6% der Patienten nahmen Alkohol zu sich, während 0,9% darauf verzichteten. Auf 98,5% der Begleitscheine war keine Angabe notiert (siehe Tab.15).

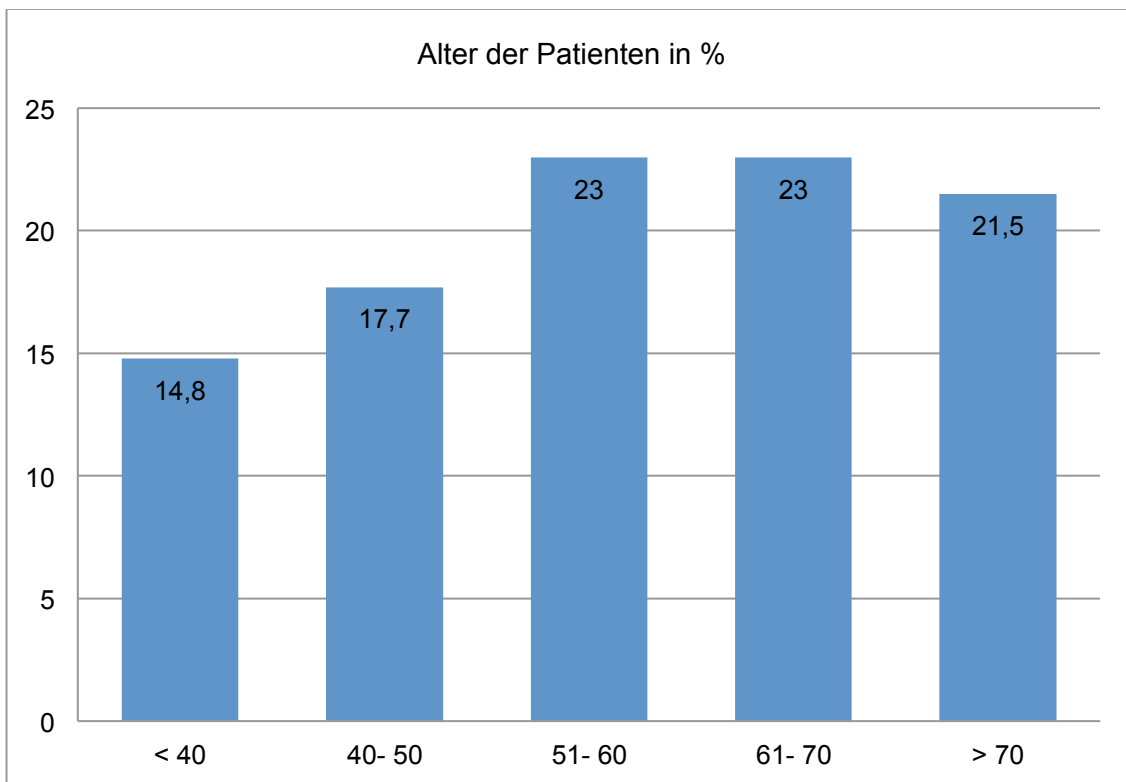
Tab. 1: Anzahl der Einsendungen pro Quartal



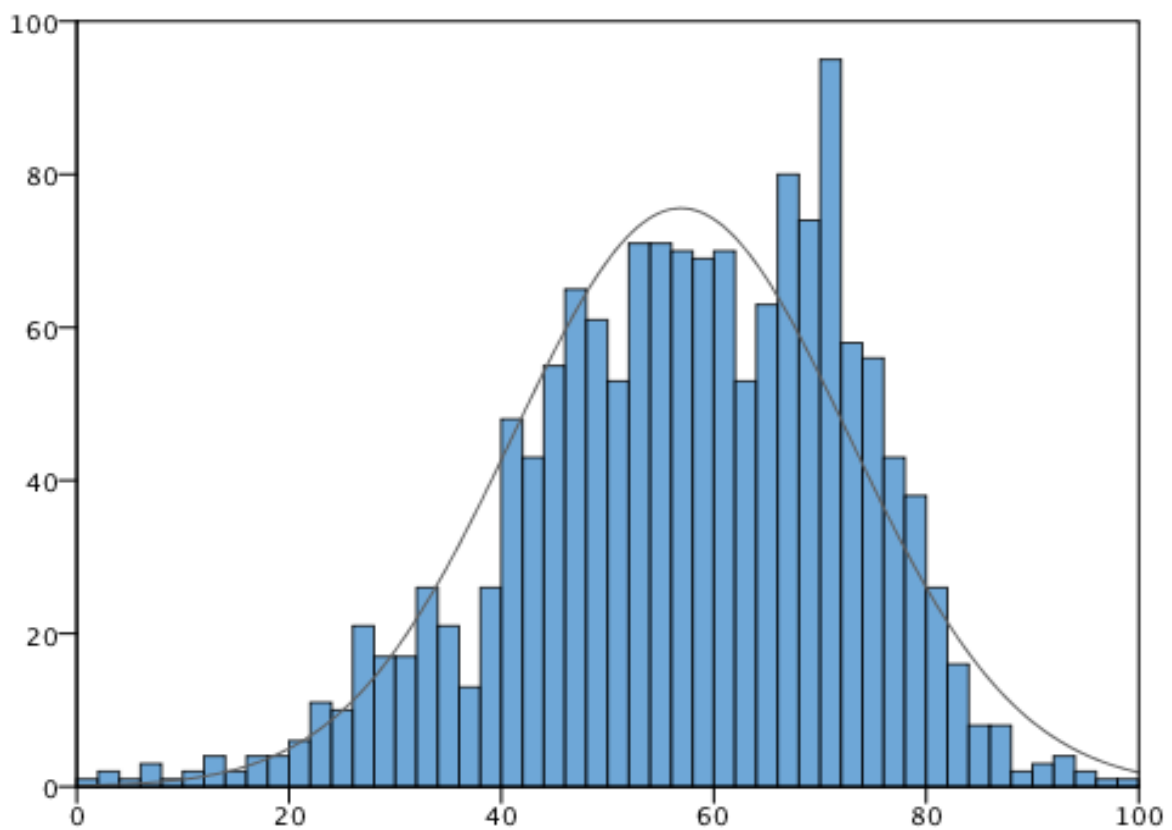
Tab. 2: Geschlecht und Alter der Patienten

	Gesamt	Frauen	Männer
Anzahl	n= 1499	56%	44%
Medianwert Alter	58	59	56

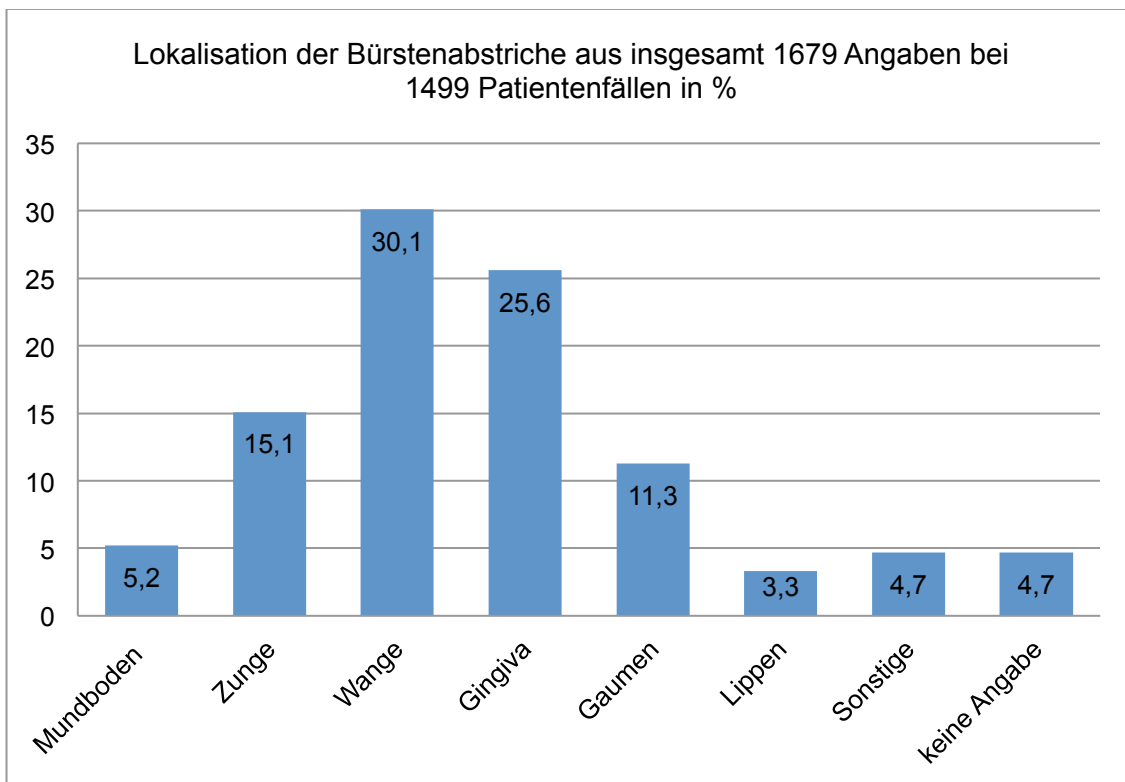
Tab. 3: Alter der Patienten eingeteilt 5 in Kategorien:



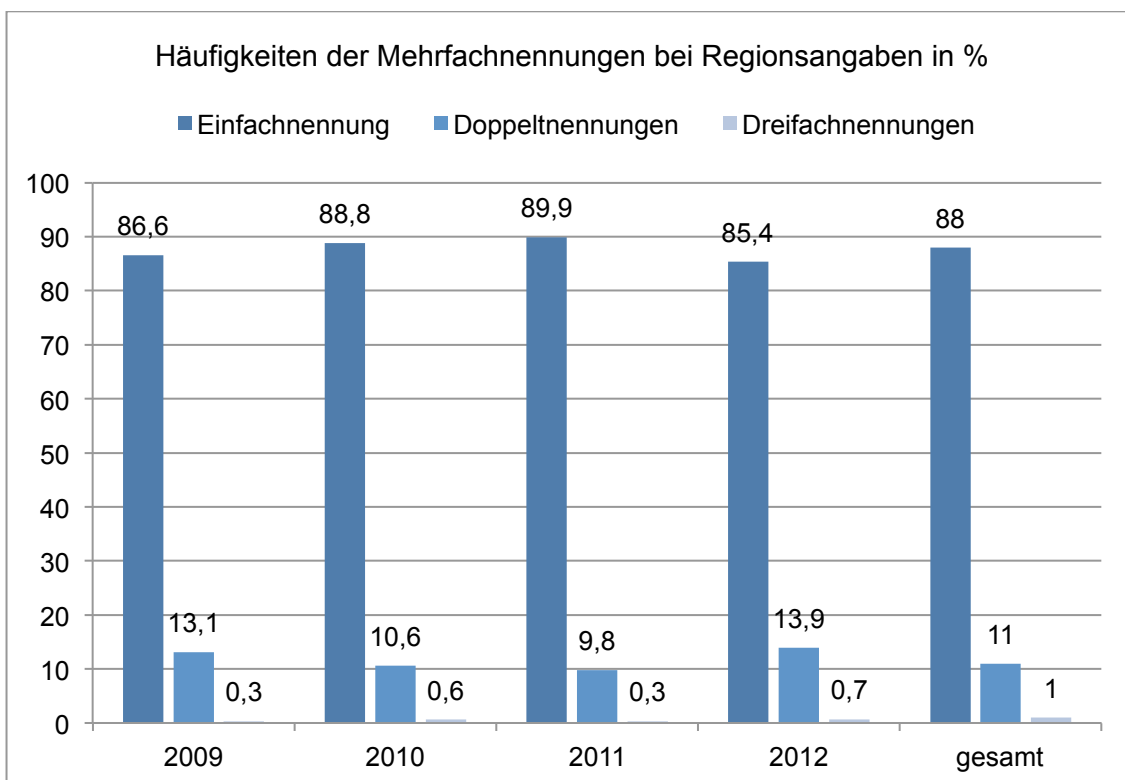
Tab. 4: SPSS- Grafik zum Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme



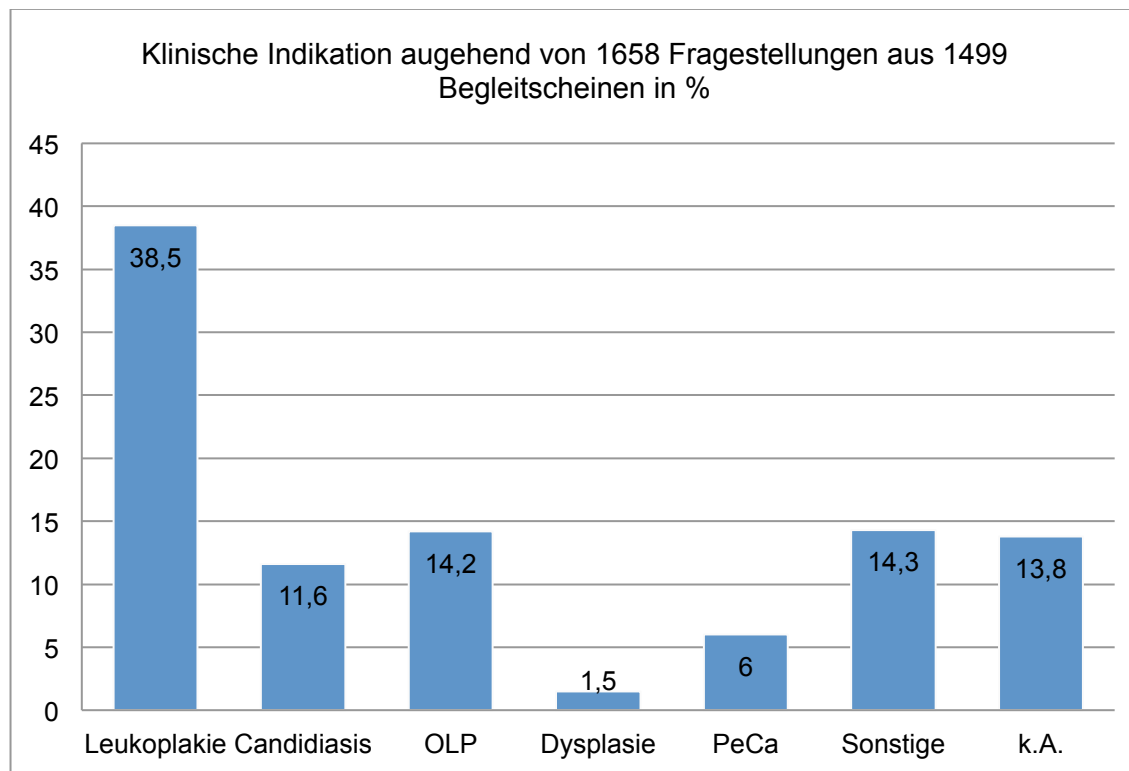
Tab. 5: Lokalisation der Entnahmestelle(n):



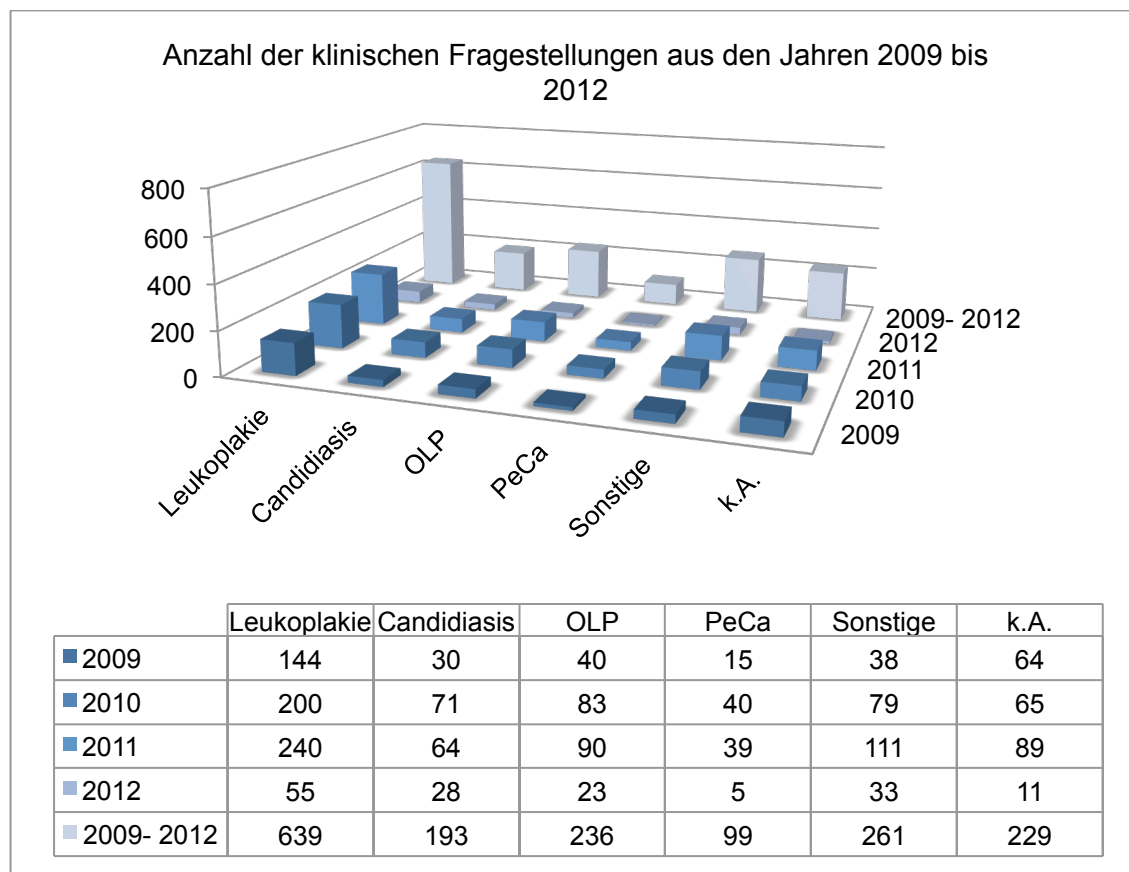
Tab. 6: Häufigkeiten von Angaben mehrerer Regionen auf einem Begleitschein



Tab. 7: Auf den Begleitscheinen angegebene klinische Diagnosen



Tab. 8: Fallzahlen der angegebenen klinischen Indikationen

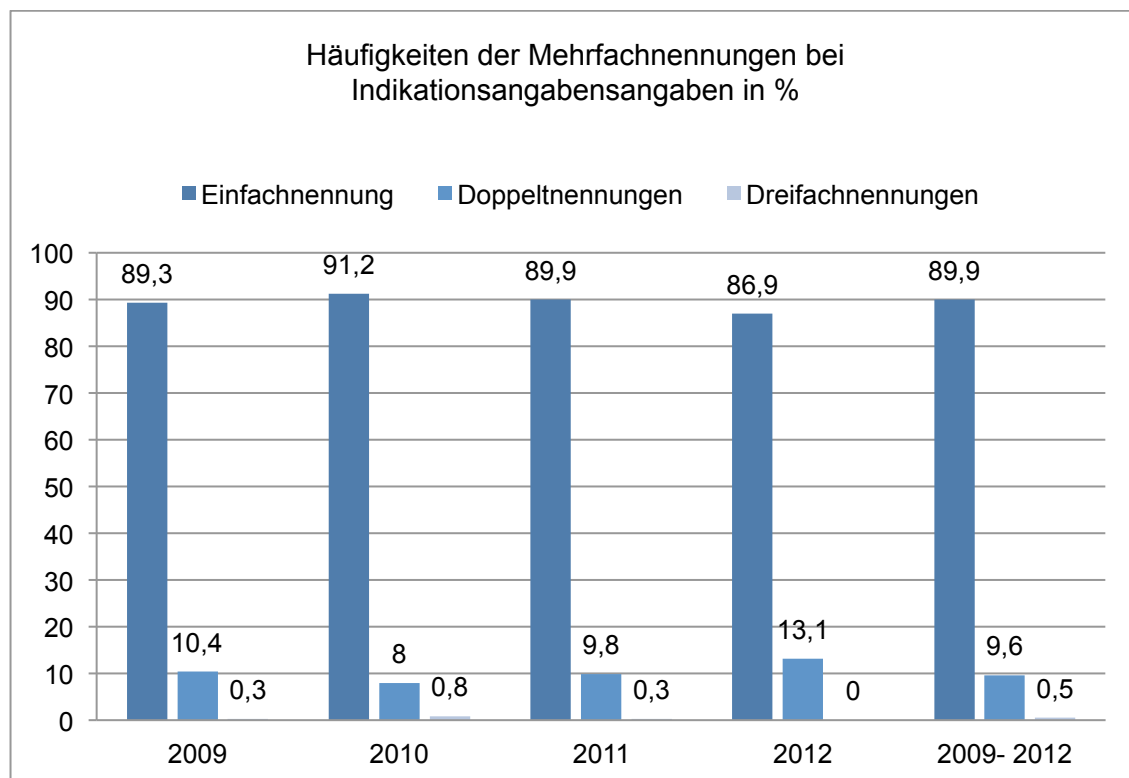


Tab. 9: Aufschlüsselung unter „Sonstige“ zusammengefasster Angaben:

Bezeichnung	2009	2010	2011	2012
Abzess	-	-	2	-
Adenoid-zystisches Carcinom	-	-	1	-
Allergie	6	1	-	1
Amalgamtätowierung	-	1	-	1
Aphthen	3	-	7	6
Basaliom	-	8	7	2
bullöses Schleimhautpemphigoid	-	-	2	-
Dekubitus	-	-	1	-
ektope Speicheldrüsen	-	-	1	-
epitheliale Neubildung	-	-	1	-
Epulis	-	1	1	1
Erythem	-	-	-	1
Erythroplakie	3	7	5	2
Fibrom	2	3	4	3
Granulomatosa teleangiektatikum	-	-	1	-
Hämangiom	-	-	2	-
Herpes	2	6	6	2
Hypertrophie/ Hyperplasie	2	5	-	-
Kanzerophobie	-	1	-	-
Lentigo	-	-	-	1
Lentigo solaris	-	-	1	-
Lingua geographica	2	3		-
Lingua plicata	-	-	2	-
Lupus eryth. Discoïdes	-	1	1	-
Melanosis	2	3	11	3
MLP	-	-	1	-
Morbus Bowen	-	2	1	-
Morsikatio	4	3	1	-
Osteomyelitis	-	-	1	-
Papillom	1	2	4	-

Bezeichnung	2009	2010	2011	2012
Peutz- Jeghers- Syndrom	-	2	-	-
Pemphigus vulgaris	-	-	-	1
Präkanzerose	1	1	4	1
Stomatitis/ Gingivitis	3	8	27	6
Tablettennebenwirkungen	-	-	1	-
Ulkus	1	6	4	1
Verbrennung	-	-	2	-
Verletzung/ MSH-Läsion/ Erosion	4	6	2	-
Verruca vulgaris	-	-	1	1
Zungenbrennen	3	1	-	-
Zyste	-	1	-	-

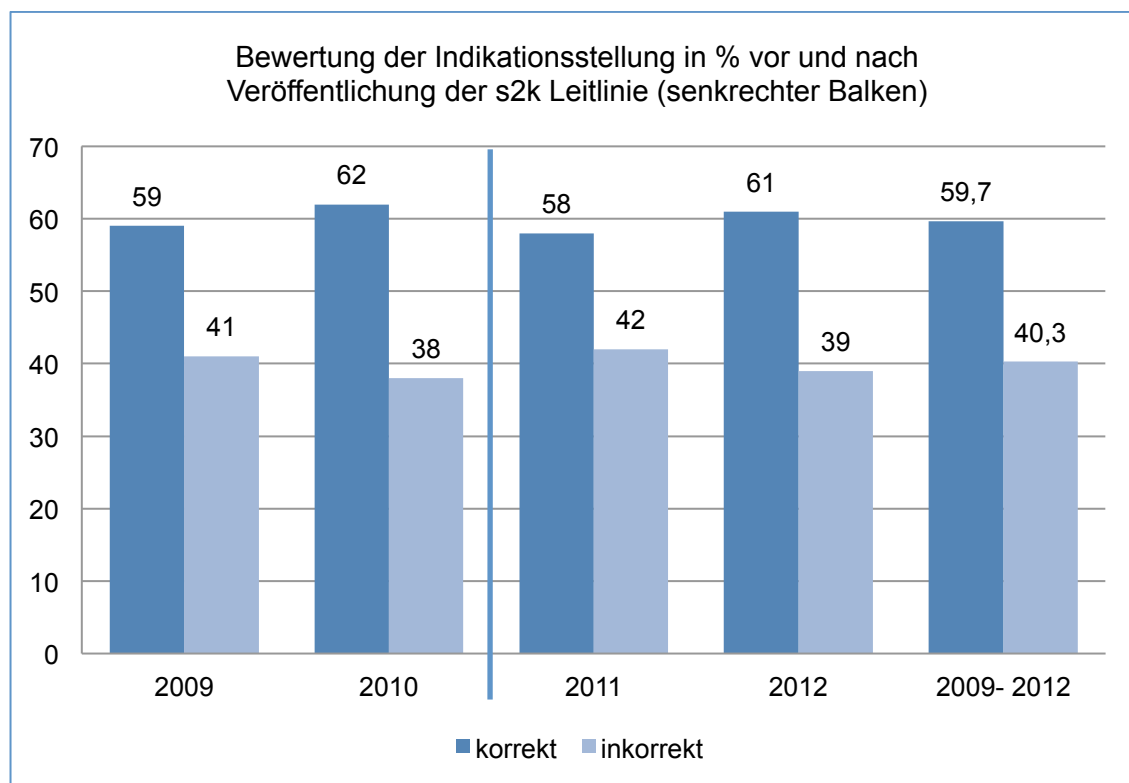
Tab. 10: Häufigkeiten der Angaben mehrerer klinischer Verdachtsdiagnosen auf einem Begleitschein



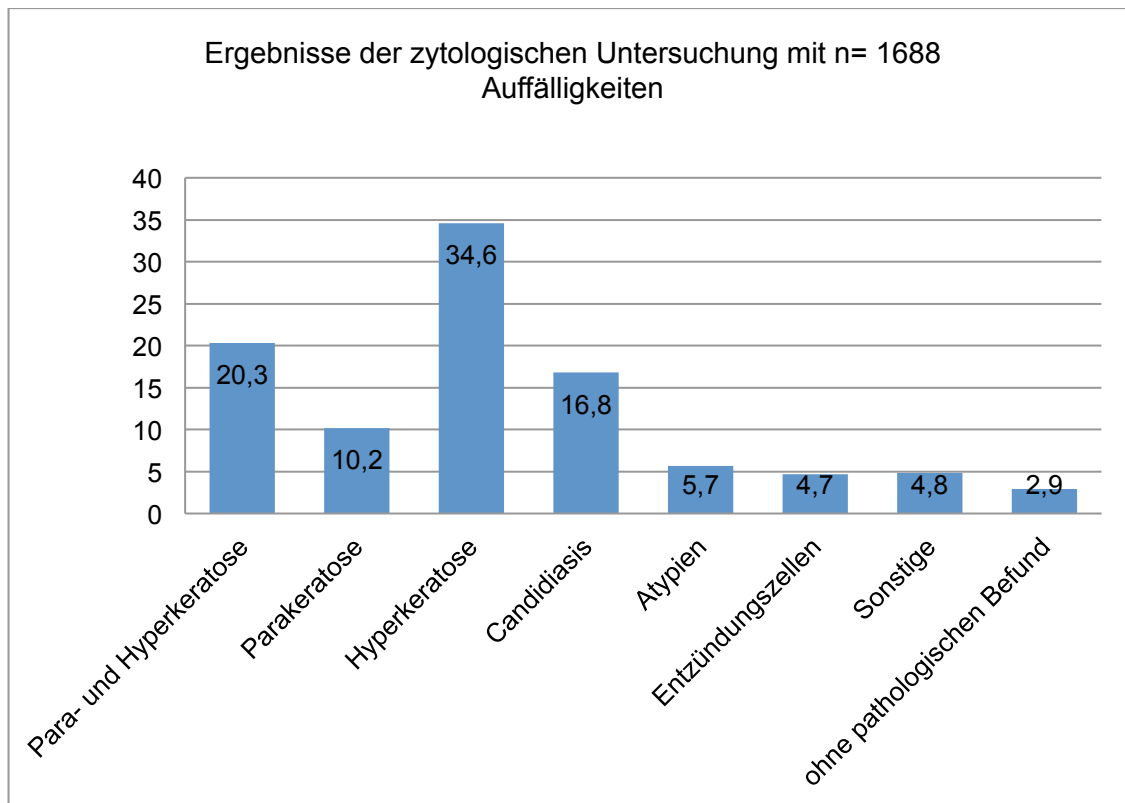
Tab. 11: Bewertungskriterien der Indikationen:

Korrekt	Inkorrekt
Homogene Leukoplakie	Inhomogene Leukoplakie
Candidiasis	Plattenepithelkarzinom
Kontrolluntersuchung eines bekannten OLP	Verdacht auf OLP
	Mehrfachnennungen
	Unter „sonstige“ aufgelistete Verdachtsdiagnosen

Tab. 12: Richtlinienkonforme Indikationsstellung:



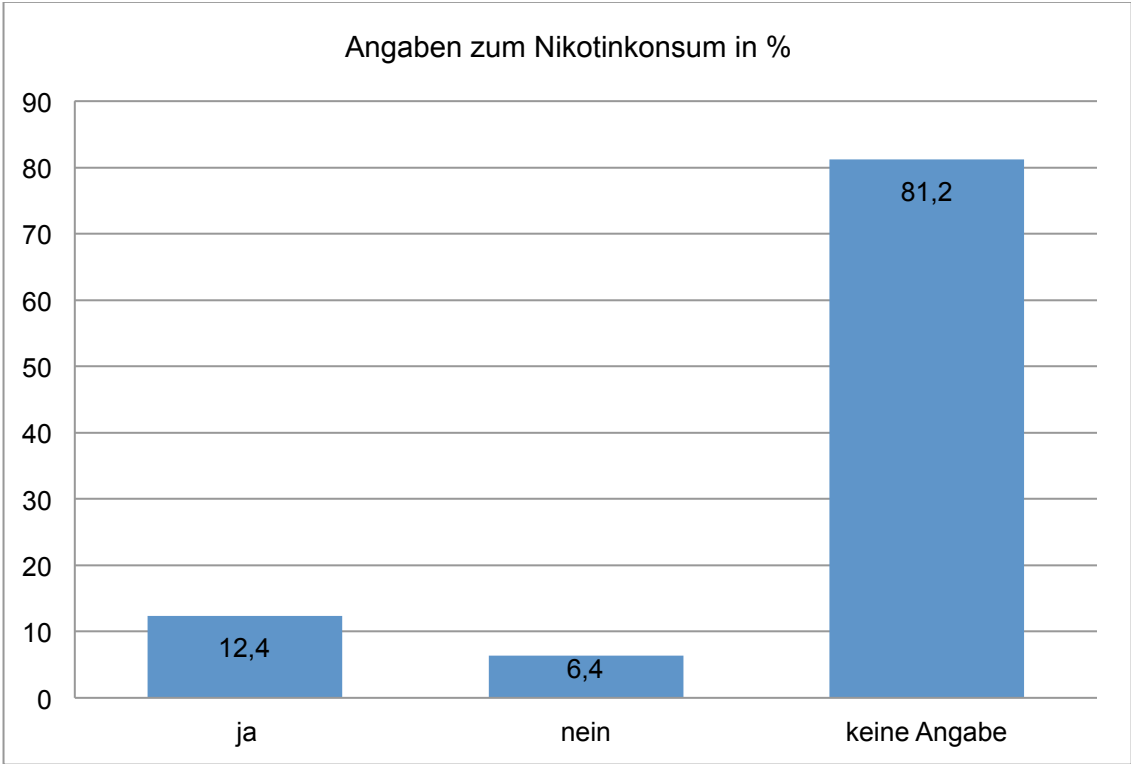
Tab. 13: Ergebnisse der zytho- pathologischen Auswertung eingegangener Abstriche



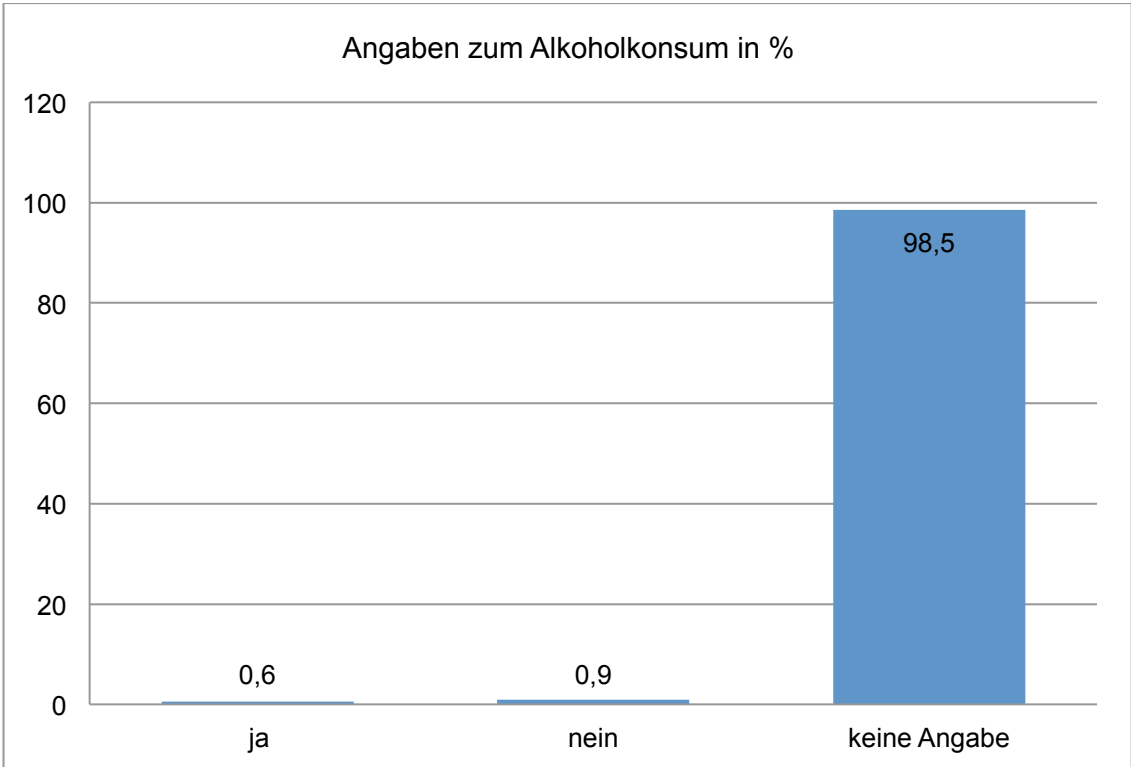
Tab. 14: Sonstige Ergebnisse zytho- pathologischer Befunde

Sonstige zytologische Befunde
Hämorrhagische Ausstriche
Bakterielle Besiedlung
CD- 20- positive Zellen
Karzinomverdächtige Zellen
Überlagerte Zellkomplexe/ nicht erkennbar
Basaloide Zelle

Tab. 15: Nikotinkonsum



Tab. 16: Alkoholkonsum



7. Diskussion

Einsendungen

Insgesamt wurden in dieser Studie 1499 Einsendungen bearbeitet, womit im Vergleich zu anderen Studien eine sehr gute Datenlage für die Auswertung zur Verfügung steht (siehe Tab.17).

Im Untersuchungszeitraum konnte ein stetiger Anstieg der Einsendungen um ca. 15 % verzeichnet werden, was auf eine zunehmende Etablierung dieses Screeningwerkzeugs in den Praxen der Anwender zurückzuführen sein könnte. Eine Sensibilisierung der Untersucher für Mundschleimhauterkrankungen durch Fortbildungsveranstaltungen, Fachliteratur und Aufklärung durch den auswertenden Oralpathologen könnten ebenfalls Faktoren für eine Steigerung der Probenentnahme sein.

Proben wurden gehäuft in den Wintermonaten also dem jeweils ersten und letzten Quartal eines Jahres eingesandt. Es könnte einen möglichen Zusammenhang mit dem von Zahnärzten subjektiv empfundenen „Sommerloch“ geben (KZVLB 2014). Demnach legen Patienten Kontrolluntersuchungen häufig an das Ende eines Jahres bzw. an den Jahresanfang.

Tab. 17: Altersdurchschnitt und Geschlechterverteilung im Vergleich mit verschiedenen Studien zu Bürstenzytologien und oralen Leukoplakien (Remmerbach, Mathes et al. 2004, Scheifele, Schmidt-Westhausen et al. 2004, Driemel, Kunkel et al. 2008, Liu, Shi et al. 2012, Volmajer 2012):

	Anzahl Patienten/ Abstriche	Frauen in %	Männer in %
Daniel (2013)	1499	56	44
(Volmajer 2012)	176	49	51
Driemel et al. (2008)	169	47	53
Scheifele et al. (2004)	80/ 103	41	59
Remmerbach et al. (2004)	205/ 1328	38	62
Liu et al. (2012)	320	55	45

Geschlecht

In der vorliegenden Studie wurden in 56% zytologische Abstriche von weiblichen Patienten genommen, während männliche Patienten mit 44% in der Minderheit blieben. Laut Ferlay et al. hat sich das Verhältnis der Geschlechterverteilung bei den Neuerkrankungen an einem Plattenepithelkarzinom im Laufe der Jahre verändert (Ferlay, Shin et al. 2010). Während in den 1960ern ein Verhältnis von männlichen und weiblichen Tumorpatienten von 5:1 bestand, lag es 2008 bei 2:1. In Deutschland liegt die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen nach Angaben des Robert- Koch- Instituts unter Männern bei 9520 und ist dreimal so hoch wie bei den Frauen mit 3490 (Kaatsch, Spix et al. 2012). Das Patientenkollektiv von Scheifele et al. zeigt mit einem Anteil an Männern von 59% und einem Frauenteil von 41% eine ähnliche Tendenz (Scheifele, Schmidt-Westhausen et al. 2004). Ebenso verhält es sich bei Remmerbach et al. mit 38% Frauen und 62% Männern (Remmerbach, Mathes et al. 2004).

Die erhöhte Inzidenz für ein orales Karzinom unter Männern wird auf eine höhere Exposition von Risikofaktoren wie Nikotin und Alkohol zurückgeführt (Freedman, Abnet et al. 2007).

In der Studie von Driemel et al. wurden 169 Patienten untersucht, von denen 47% Männer und 53% Frauen waren (Driemel, Kunkel et al. 2008).

In der Studie von Volmajer zeigt sich ebenfalls eine nahezu ausgewogene Geschlechterverteilung mit 49% betroffenen Frauen und 51% Männern (Volmajer 2012).

Nach einem positiven OralCDx[®]- Befund sollten Ärzte einen Fragebogen zur anschließend erfolgten Skalpelliopsie ausfüllen. Nicht alle Ärzte kamen dieser Bitte nach. Somit kann das Patientenkollektiv der Studie nur als Stichprobe gesehen werden, die repräsentativ für die Anzahl der Patienten steht, von denen tatsächlich eine zytologische Probe entnommen wurde.

Diese Ergebnisse könnten einen neuen Trend repräsentieren, der u. a. auch bei Liu et al. zu erkennen ist. Frauen mit einer oralen Leukoplakie waren mit einem Gesamtanteil von 55% häufiger und wiesen mit 21% auch mehr maligne Entartungen auf als Männer, deren leukoplake Läsionen nur zu 14% transformierten (Liu, Shi et al. 2012).

Das Ergebnis der vorliegenden Studie lässt nur bedingt Rückschlüsse auf die geschlechtsspezifische Inzidenz von Mundschleimhauterkrankungen zu. Der höhere Frauenanteil lässt sich u. a. auf ein höheres Gesundheitsbewusstsein seitens der Frauen zurückführen, die durch halbjährlich anfallende gynäkologische Vorsorgeuntersuchungen anders als Männer mit Routineuntersuchungen umgehen. Laut Akinkugbe gehen mit 71,3% mehr Frauen zur zahnärztlichen Vorsorgeuntersuchung als Männer mit 67,3% (Akinkugbe und Lucas-Perry 2013). Haben sich bei den untersuchenden Ärzten im Verhältnis mehr Frauen als Männer vorgestellt, ist denkbar, dass dadurch die Statistik dieser Studie beeinflusst wurde.

Hinzu kommt, dass Männer häufiger an malignen Mundschleimhautläsionen leiden, bei denen eine Skalpelliopsie der Bürstenzytologie vorzuziehen ist. Wurde bei solchen suspekten Läsionen eher eine chirurgische Biopsie durchgeführt, standen sie nicht mehr zur zytologischen Auswertung zur Verfügung. Dadurch wächst der Anteil der Frauen. Dies gilt nur unter der Annahme, dass der betroffene Arzt im Einzelfall eine korrekte klinische Verdachtsdiagnose gestellt hat und dem Behandlungsschema der Leitlinie folgt (siehe Kapitel 6. Diskussion- Wertung der Indikationsstellung bzw. Kapitel 2.8. Die s2k- Leitlinie der DGZMK).

Alter

Zum Zeitpunkt der Probeentnahme waren in der vorliegenden Studie Frauen mit einem Medianwert von 59 Jahren älter als Männer mit 56 Jahren. Insgesamt lag der Medianwert des Alters bei 58 Jahren. Gehäuft wurden Abstriche von 51- 60- Jährigen und 61- 70 –Jährigen mit jeweils 23% eingesandt.

In einer großen Studie an 3256 Leukoplakien konnten Waldron und Shafer ein gehäuftes Auftreten in der 5. und 6. Lebensdekade verzeichnen (Waldron und Shafer 1975). Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Bánóczy, die 630 Patienten über 30 Jahre lang beobachtete. Sie stellte fest, dass es im 5. Lebensjahrzehnt eine erhöhte Prävalenz für orale Leukoplakien gibt, während im Alter von 61- 70 Jahren eine erhöhte Prävalenz für Plattenepithelkarzinome bestand (Bánóczy 1977). Auch Liu untersuchte Patienten mit oralen Leukoplakien, die bei der Initialdiagnose im Schnitt 54,1 Jahre alt waren (Liu, Shi et al. 2012).

Doch Patienten mit einem oralen Karzinom werden jünger. Zwischen 1955 und 1995 betrug der Medianwert des Alters 65 Jahre, während er 1995 bis 2004 bei 55 Jahren lag (Dahlstrom, Calzada et al. 2013). Mehta et al. stellten fest, dass die Inzidenz des oralen und oropharyngealen Karzinoms unter den 40- 59- Jährigen im Zeitraum von 1974 bis 2006 von 35% auf 45% gestiegen ist (Mehta, Yu et al. 2010).

Die Wahrscheinlichkeit in jüngeren Jahren an einem Plattenepithelkarzinom zu erkranken ist bei Männern höher als bei Frauen (Mehta, Yu et al. 2010). Das Robert-Koch- Institut ermittelte, dass in Deutschland Frauen zum Zeitpunkt der Neuerkrankung im Schnitt 66 Jahre und Männer 61 Jahre alt sind (Kaatsch, Spix et al. 2012).

In der Studie von Volmajer lag das Durchschnittsalter mit 64 Jahren über den in der Literatur angegebenen Werten. Allerdings zeigte sich auch hier die Tendenz, dass bei Frauen Mundschleimhautläsionen zu einem späteren Zeitpunkt auftreten als bei Männern (Volmajer 2012). Das ist auch in der vorliegenden Arbeit und anderen in Tabelle 18 aufgelisteten Studien erkennbar.

In anderen Studien lag das Durchschnittsalter mit 54 Jahren (Driemel, Kunkel et al. 2008), 58,6 Jahren (Scheifele, Schmidt-Westhausen et al. 2004) und 59,3 Jahren (Remmerbach, Mathes et al. 2004) ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit.

Tab. 18: Alter der Patienten bei Probeentnahme im Vergleich mit anderen Studien:

	Anzahl Patienten/ Abstriche	Frauen in %	Männer in %	Gesamt in %
Daniel (2013)	1499	58	59	56
Volmajer (2011)	176	64	66	63
Driemel et al. (2008)	169	54	-	-
Scheifele et al. (2004)	80/ 103	58,6	64,3	53,2
Remmerbach et al. (2004)	205/ 1328	59,3	62,4	57,3
Liu et al. (2012)	320	54,1	-	-

Lokalisation der Entnahmestelle(n)

Wegen ungenauer bzw. fehlender Angaben zur Entnahmestelle wurden größere Untergruppen gebildet, um eine statistische Auswertung mit möglichst wenigen fehlenden Angaben und einen internationalen Vergleich mit anderen Autoren zu ermöglichen (siehe Tab. 19).

Es werden Risikoareale beschrieben, die mit einer vermehrten malignen Entartung der dort bestehenden potentiell malignen Läsionen einhergehen. Läsionen, die sich in diesen Arealen manifestieren, sollten durch eine chirurgische Biopsie abgeklärt werden. Zu diesen Regionen gehören der Zungenrand und Mundboden. Aber auch die Lippen werden von einigen Autoren als ein solches Areal beschrieben (Waldron und Shafer 1975, Warnakulasuriya, Kovacevic et al. 2011). In dieser Studie wurden 20,3% der zytologischen Abstriche vom Mundboden und der Zunge entnommen. Den Begleitscheinen war in seltenen Fällen zu entnehmen, dass es sich um eine Kontrolluntersuchung einer Läsion mit vorher histologisch verifizierter Dignität handelt. Somit ist davon auszugehen, dass in nahezu einem Viertel aller Proben eine chirurgische Biopsie der Bürstenzytologie vorzuziehen gewesen wäre. Einschränkung

ist zu sagen, dass, wie oben bereits beschrieben, nicht alle Angaben genau waren. Es ist daher nicht eindeutig nachvollziehbar, an welcher Stelle der Zunge die Läsion lokalisiert war und ob es einem Risikoareal entsprach.

Volmajer wies in ihrer Arbeit eine ähnliche Beteiligung von 22,3% der Läsionen nach. Allerdings gibt sie zu bedenken, dass lediglich positive Bildzytometrie- Befunde, also sowohl positiv auf Dysplasien bzw. für Karzinom wie auch auf Atypien, in die Auswertung mit eingeschlossen wurden (Volmajer 2012). 15,4% der Leukoplakien der Studie von Waldron und Shafer fanden sich an Risikolokalisationen (Waldron und Shafer 1975). In der Studie von Liu et al. wurde die Zunge überproportional oft mit 57,2% angegeben. Der Mundboden war bei keinem Patienten betroffen (Liu, Shi et al. 2012).

Der Anteil der nicht mit einem erhöhten Transformationsrisiko behafteten Areale wie Wange, Gingiva und Gaumen betrug in dieser Studie 67% und liegt somit nahe an den Werten anderer Autoren. Es wurden Angaben von 66,2% (Volmajer 2012) und 74,4% (Waldron und Shafer 1975) gemacht, aber auch von 41% (Liu, Shi et al. 2012). Dass diese Werte im Großteil der Studien hoch sind, kann zum einen mit einer erhöhten Bereitschaft seitens des Arztes und des Patienten eine nicht- invasive Untersuchungsmethode anzuwenden, erklärt werden. Zum anderen stellt die Bürstenzytologie bei einer klinisch benignen Läsion an einem risikoarmen Areal auch laut Leitlinie der DGZMK eine Ergänzung zur Beobachtung dar. Nicht zuletzt muss beachtet werden, dass sich sowohl die orale Leukoplakie als auch der OLP häufig in der bukkalen Mukosa manifestieren (Liu, Shi et al. 2012, Shen, Liu et al. 2012).

Der Einfluss der Lokalisation auf das Risiko einer malignen Transformation wird in der Literatur diskutiert. Während manche Autoren einen Zusammenhang zu einem erhöhten Entartungsrisiko feststellen konnten (Waldron und Shafer 1975, Holmstrup, Vedtofte et al. 2006, Warnakulasuriya, Kovacevic et al. 2011), war er in den Studien anderer Autoren nicht nachweisbar (Abd Rahman, Nabillah Ghani et al. 2013). Es gilt zu bedenken, dass Läsionen mit hochgradigen Dysplasien, die vermehrt an Risikoarealen auftauchen, häufig exzidiert wurden und für ein Follow- up nicht mehr zur Verfügung standen. Der inhomogene Aufbau der Studien erschwert einen Vergleich.

Auffällig ist der hohe Wert der von den Zahnärzten angegebenen Entnahmestellen im Vergleich zu Einsendungen. Es stehen 1679 Angaben 1499 Begleitscheinen gegenüber, was sich in der Jahresübersicht mit ca. 10% Doppelt- Nennungen und weniger als 1% Dreifach- Nennungen pro Begleitschein niederschlägt.

Ist die Schleimhautläsion so groß, dass sie sich über mehrere anatomische Strukturen erstreckt, ist es sinnvoll, einen zweiten Abstrich an einer weiteren Stelle durchzuführen. Nicht selten finden sich Veränderungen der Mundschleimhaut seitensymmetrisch auf der kontralateralen Seite, sodass ebenfalls eine zweite Bürste für einen weiteren Abstrich bei demselben Patienten nötig ist (Pelliccioli, Visioli et al. 2011, Siar, Mah et al. 2011). Die Entnahmeregionen sollten klar auf dem Objektträger markiert sein, um die Proben bei der zytologischen Untersuchung differenzieren zu können.

Weil jedem Arzt nur zwei Bürsten pro Begleitschein zur Verfügung standen, ist unklar, wie es zu Dreifach- Nennungen kam. Entweder wurden betroffene Regionen aufgezählt, ohne dass von allen Abstriche genommen wurden. Oder es wurden mit einer bzw. zwei Bürsten Zellen verschiedener Areale gesammelt. Beides erschwert es dem Oralpathologen, eine korrekte Diagnose zu stellen, weil ohne genaue Angabe der Entnahmeregion eine physiologische Keratose schwer von einer pathologischen unterschieden werden kann. Dies gilt vor allem bei der klinisch gestellten Verdachtsdiagnose einer Leukoplakie.

Insgesamt 9,4% enthielten unspezifische oder gar keine Angaben zur Entnahmestelle. Gründe dafür könnten mangelnde anatomische Kenntnisse bzw. Unsicherheiten bei der Spezifizierung der Strukturen seitens des Zahnarztes sein. Möglich ist auch, dass er sich im laufenden Praxisbetrieb nicht die nötige Zeit nehmen konnte den Begleitbogen vollständig auszufüllen oder diese Aufgabe an unzureichend qualifiziertes Personal delegiert hat.

Tab. 19: Vergleich der Lokalisation der Entnahmestellen bzw. Mundschleimhautläsionen in % mit anderen Studien:

	Daniel (2013)	Volmajer (2011)	Liu et al. (2012)	Waldron und Shafer (1975)
Gesamtzahl (n=)	1499	205	320	3256
Mundboden	5,2	11,2	-	8,6
Zunge	15,1	13,4	57,2	6,8
Wange	30,1	11,2	29,1	41,8
Gingiva	25,6	25,1	8,1	21,9
Gaumen	11,3	29,9	3,8	10,7
Lippen	3,3	7,9	-	10,3
Sonstige	4,7	0,9	-	-
Keine Angabe	4,7	0,4	-	-

Klinische Indikation

Als häufigste Verdachtsdiagnose wurde die orale Leukoplakie mit 38,5% angegeben. Eine Candidiasis wurde in 11,6% und der OLP in 14,2% vermutet. Eine zytologische Untersuchung ist hier indiziert und wird im Falle der oralen Leukoplakie auch halbjährlich empfohlen (Kunkel, Bengel et al. 2010). Sollte eine Candidiasis zytologisch als Nebenbefund festgestellt worden sein, lässt sich der Therapieerfolg nach topischer antimykotische Medikation durch einen weiteren Abstrich überprüfen. Das konnte auch wenigen Begleitscheinen entnommen werden. In den meisten Fällen war der Wunsch nach einer Kontrolluntersuchung nicht auf dem Begleitschein vermerkt und wurde lediglich durch doppelte Namensnennungen des betroffenen Patienten bemerkt. Weil es nicht bei allen Anfragen eindeutig war, wurden auch diese Fälle als autonome Anfrage gewertet und als solche in die statistische Betrachtung integriert.

Ähnliches wurde in der vorliegenden Studie bei der Verdachtsdiagnose OLP bemerkt. Die Verifizierung bzw. Falsifizierung der klinisch gestellten Differentialdiagnose OLP kann nur mithilfe der histologischen Untersuchung einer Gewebeprobe erfolgen, da charakteristische Krankheitsprozesse subepithelial vonstatten gehen und somit durch einen zytologischen Abstrich nicht erfasst werden können (Schmidt- Westhausen 2002). Durch die Bürstenzytologie können lediglich epitheliale Dysplasien nachgewiesen werden, die Ausdruck eines Transformationsprozesses sind. Dennoch wurden nahezu alle Begleitscheine ohne den Vermerk „Kontrolluntersuchung“ versandt. Das gibt Anlass zur Vermutung, der Zahnarzt habe eine Differenzialdiagnose gefordert. Daher wurden Anfragen bei denen weder vermerkt wurde, dass es sich um einen bekannten OLP oder eine Kontrolluntersuchung handelt, als nicht- indikationsgerecht gewertet.

Ebenso wurde verfahren, wenn um die Abklärung einer Gingivitis gebeten wurde oder mehr als zwei Verdachtsdiagnosen auf dem Begleitschein vermerkt waren. Dreifach- Nennungen waren mit weniger als 1% Ausnahmen, während Doppelt- Nennungen mit ca. 10% in allen Jahren häufiger gemacht wurden. Sie könnten Ausdruck von zwei parallel ablaufenden pathologischen Prozessen oder der Bitte um Differenzierung durch den Pathologen sein. Im ersten Fall wäre eine Indikation für eine zytologische Untersuchung gegeben, sofern oben genannte Kriterien eingehalten wurden und die Proben durch eindeutige Beschriftung zu differenzieren sind. Im zweiten Fall ist die Bürstenzytologie kontraindiziert, da eine Differenzierung nur durch eine Gewebeprobe möglich ist.

6% der Zahnärzte vermuteten einen malignen Prozess. Obwohl es zahlreiche Autoren gibt, die gute Werte für die Sensitivität und Spezifität der Bürstenzytologie in der Diagnose eines oralen Plattenepithelkarzinoms angeben (siehe Kapitel 2.5.6. Sensitivität und Spezifität der Bürstenzytologie), gilt gemäß der Leitlinie nach wie vor die Inzisionsbiopsie als Goldstandard. Da nicht sicher zu sagen ist, ob die Bürste eine ausreichende Eindringtiefe aufweist, um die häufig einem Karzinom aufliegende keratotische Schicht zu durchdringen, besteht die Möglichkeit eines falsch negativen Ergebnisses. Das ginge mit einem nicht tolerablen Therapieverzug einher (Naugler 2008). Somit besteht hier eine klare Kontraindikation. Weiterhin gilt zu bedenken, dass in zahlreichen Studien nur suspekte Läsionen mit einer Skalpellbiopsie verglichen wurden und bei den klinisch benignen lediglich eine zytologische Untersuchung durchgeführt wurde.

Eine limitierte Indikation hat die Bürstenzytologie nach Lingen et al. jedoch in Ausnahmefällen bei Läsionen mit Malignitätsverdacht bei folgenden Patienten (Lingen, Kalmar et al. 2008):

- bei Patienten mit multiplen Läsionen und ohne Hinweis auf oropharyngeale Karzinome in der Krankengeschichte.
- Patienten mit mangelnder Compliance, die nicht zu einem Follow-up erscheinen würden oder sich trotz des dringenden Hinweises nicht bei einem spezialisierten Oralchirurgen vorstellen wollen.
- Patienten bei denen eine chirurgische Biopsie aus gesundheitlichen Gründen oder durch Einnahme von Medikamenten nicht ohne weiteres durchführbar wäre.

Auf 14,3% der Begleitscheine wurden sonstige Angaben gemacht, die beispielsweise orale subepitheliale oder extraorale Prozesse beinhalteten. Sowohl „sonstige“ als auch „keine Angaben“, die in 13,8% angegeben wurden, sind als nicht indikationsgerecht gewertet worden. Gründe für das Fehlen der klinischen Verdachtsdiagnose könnte mangelnde Fachkenntnis im Bereich der Mundschleimhauterkrankungen sein. Aber auch, wie bereits oben erwähnt, Zeitmangel, der ein vollständiges Ausfüllen des Formulars nicht ermöglichte bzw. Delegation der Aufgabe an weniger qualifiziertes Personal.

Verteilt auf die einzelnen Jahre, blieben die Häufigkeiten der verschiedenen Fragestellungen gleich. Mit Ausnahme der fehlenden Angaben und Plattenepithelkarzinome, die im ersten Quartal 2012 einen verhältnismäßig geringen Anteil hatten, kann bei allen anderen Verdachtsdiagnosen ein kontinuierlicher Anstieg beobachtet werden. Das entspricht dem Zuwachs an durchgeführten Bürstenzytologien.

Wertung der Indikation

In allen untersuchten Jahren wurde die Indikation durch den Anwender in ca. 60% der Fälle korrekt gestellt.

Da diese Studie auf der retrospektiven Auswertung der Begleitscheine basiert, ist nicht mit Sicherheit zu sagen, ob alle untersuchenden Zahnärzte den entdeckten Läsionen tatsächlich die korrekte klinische Verdachtsdiagnose zugeordnet haben. Auch wenn diese auf dem Formular indikationsgerecht angegeben wurde. Einsendungen kamen deutschlandweit von Zahnärzten, Oralchirurgen und Mund- Kiefer- Gesichtschirurgen, deren Fachkenntnisse über Mundschleimhauterkrankungen unbekannt waren. Daher ist

der Vergleich mit anderen Studien, die von spezialisierten Kollegen an Universitätskliniken durchgeführt wurden, schwer, auch daher, weil klinisch suspekta und maligne Läsionen zur Ermittlung von Sensitivitäten und Spezifitäten in vielen Studien in die Untersuchung mit einbezogen wurden.

40% der Präparate wurden mit inkorrektur Indikation eingesandt, was bedeutet, dass diese trotz einer auffälligen Mundschleimhautläsion nicht adäquat diagnostiziert werden konnten.

Laut Liu et al. ist eine sorgfältige Untersuchung der Mundschleimhaut nötig, um potentiell maligne Läsionen zu erkennen. Fällt dem Untersucher eine Veränderung der Schleimhaut auf, bewertet er diese anhand des klinischen Erscheinungsbildes, seiner klinischen Erfahrung bzw. Wissensstand und anhand der Utensilien, die für eine Weiterbehandlung zur Verfügung stehen (Liu, Walsh et al. 2012). Ähnliches sieht es auch Greenberg: Das Problem sei nicht, dass Zahnärzte Läsionen übersehen, weil sie einen Mangel an zusätzlichen Diagnosetools haben, sondern, weil sie die oralen und perioralen Gewebe nicht gründlich und nicht häufig genug untersuchen. Zudem hätten sie durch eine inadäquate klinische Erfahrung Defizite bei der Identifikation der Läsion (Greenberg 2002).

Deutsche Zahnärzte wissen, dass orale Plattenepithelkarzinome häufig am Mundboden auftreten und meist in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert werden. Doch kannte, laut einer Studie von Hertrampf et al., ein Großteil der Befragten weder das Erscheinungsbild noch Symptome des Frühstadiums (Hertrampf, Wiltfang et al. 2010). Lediglich 50% der in einer weiteren Studie befragten Zahnärzte wussten, dass Plattenepithelkarzinome im Frühstadium symptomlos sind, während 60% das klinische Erscheinungsbild als kleines, rotes Areal zuordnen konnten (Hertrampf, Wenz et al. 2012). Diese und die vorliegende Studie unterstreichen die Notwendigkeit der Fortbildung deutscher Zahnärzte im Umgang mit Mundschleimhautläsionen und deren korrekter Diagnose. Eine falsche Indikationsstellung kann Ausdruck von Unsicherheiten in der Diagnose mit Mundschleimhauterkrankungen, von fehlender Erfahrung oder eines nicht aktuellen Wissensstands sein. Die Verbreitung der Leitlinie über Fortbildungen, Beiträge in Fachliteratur und Broschüren kann einen Beitrag dazu leisten. So konnte Hertrampf et al. nach strukturierter Fortbildung und kontinuierlichem Training der befragten Ärzte ein Jahr später eine Verbesserung feststellen (Hertrampf, Wenz et al. 2011).

Auch der auswertende Pathologe kann den Zahnarzt bei nicht korrekter Indikationsstellung auf die Notwendigkeit weiterführender Diagnostik aufmerksam machen und eine Inzisionsbiopsie empfehlen.

Ergebnisse der zytologischen Untersuchung

Hyper- bzw. Parakeratosen hatten einen Gesamtanteil von 65,1% an allen gestellten Diagnosen. Im Vergleich dazu wurde auf 38,5% der Begleitscheine um Abklärung einer Leukoplakie gebeten. 42,3% der Abstriche wurden an physiologisch keratinisierten Mundschleimhautarealen wie Gingiva und Gaumen entnommen. Bei Proben dieser Regionen ist es nicht immer möglich eine physiologische von einer pathologischen Hyperkeratose zu unterscheiden.

Goodson et al., die weiße und rote Läsionen untersuchten, wiesen mit 34% weniger Keratosen zytologisch nach (Goodson, Wadhera et al. 2013). Sie fanden in 30,7% Fällen Dysplasien (siehe Tab. 20). 9,6% der untersuchten Proben zeigten milde Dysplasien, 7,7% enthielten moderate und 13,4% hochgradig dysplastische Epithelzellen. Eine Gradierung der in der vorliegenden Studie auffälligen 5,7% epithelialen Atypien wurde nicht vorgenommen, da in der zytologischen Untersuchung lediglich Zellanomalien, nicht aber die Schicht, aus der die Zelle entnommen wurde, erkennbar ist. Für die verlässliche Diagnose einer epithelialen Dysplasie ist es unerlässlich, die Infiltrationstiefe der atypischen Zellen bestimmen zu können. Bei der Bewertung der Atypien muss man beachten, dass es sich lediglich um epitheliale Veränderungen unklarer diagnostischer Signifikanz handelt, die nicht immer mit einem malignen Geschehen einhergehen müssen, sondern auch Ausdruck eines inflammatorischen Prozesses sein können (Patton, Epstein et al. 2008).

Es wurde bei entsprechendem Befund die Empfehlung an den Zahnarzt gegeben, eine Gewebeprobe zu entnehmen. Die Verdachtsdiagnose „Dysplasie“ wurde von 1,5% der Ärzte gestellt.

Der Oralpathologe konnte in 16,8% der Abstriche eine orale Candidiasis nachweisen, die von 11,6% der Zahnärzte vermutet wurde. Hierzu zählten auch Verlaufskontrollen nach antimykotischer Therapie. Bei Goodson et al. wurden nur 13 Candidainfektionen bei 156 Patienten festgestellt. Möglich ist, dass das Patientenkollektiv durch geschulte Zahnärzte vorselektiert und im Hinblick auf eine durchzuführende Studie genauer untersucht wurde. In der vorliegenden Studie wusste zum Zeitpunkt der Probeentnahme keiner der Zahnärzte von der anonymen Auswertung der von ihnen

angegebenen Daten, um durch damit einhergehende differenzierte Auswahlkriterien und selbstkritische Überprüfung im Umgang mit der Bürste die Ergebnisse nicht zu verfälschen.

Entzündungszellen kamen häufig in Kombination mit anderen zytopathologischen Auffälligkeiten vor und wurden in 4,7% isoliert festgestellt. Etwa der gleiche Anteil entfiel auf sonstige Diagnosen wie beispielsweise „hämorrhagische Ausstriche“ oder „bakterielle Besiedlung“. Da es sich bei den Befunden „karzinomverdächtige-“, „basaloide-“ und „CD20-positive Zellen“ um potentielle Tumordiagnosen handelte, wurden dem Zahnarzt weitere Untersuchungen zur Sicherung der Verdachtsdiagnose angeraten.

2,9% der Ärzte konnte mitgeteilt werden, dass die Ausstriche ohne einen pathologischen Befund waren.

Zu beachten ist bei allen Befunden, dass sie anhand einzelner epithelialer Zellen, die nicht mehr im Epithelverbund vorkommen, erhoben wurden. Es lässt sich daher nur der Zustand der Zellen, nicht aber die Ätiologie des pathologischen Befundes ermitteln.

Tab. 20: Vergleich der zytologischen Befunde mit einer weiteren Studie in %:

	Daniel (2013)	Goodson et al. (2013)
Gesamtzahl der Ergebnisse (n=)	1688	156
Para- und Hyperkeratose	63,3	34
Candidiasis	16,8	8,3
OLP	1,8	-
Atypien	5	6,4
Dysplasie	0,7	30,7
Stomatitis	4,7	-
Sonstige	4,8	-
o.p.B.	2,9	16
Carcinoma in situ	-	3,8
Plattenepithelkarzinom	-	1,3

Nikotin- und Alkoholkonsum

Obwohl einige Autoren im Laufe ihrer Untersuchung keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Zigaretten- und Alkoholkonsum und der malignen Entartung von Leukoplakien feststellen konnten (Liu, Shi et al. 2012), gelten beide Agenzien nach wie vor als Risikofaktoren. Vor diesem Hintergrund gibt das Ergebnis der vorliegenden Studie Anlass die deutschen Zahnärzte nicht nur über die Differenzialdiagnose von Mundschleimhauterkrankungen, sondern auch über deren Ätiologie und den Einfluss von Risikofaktoren aufzuklären. Nur 18,4% der Zahnärzte

machten Angaben zum Zigarettenkonsum ihrer Patienten und nur 1,5% zum Alkoholkonsum. Hierbei gaben 12,4% der Patienten an Raucher zu sein und 0,6% bestätigten Alkoholkonsum. Unklar ist, ob die Ärzte eine Patientenanamnese erhoben, diese aber nicht auf den Begleitschein übertragen haben, oder ob sie gänzlich fehlte bzw. nicht regelmäßig aktualisiert worden ist. Weiterhin muss beachtet werden, dass Patienten häufig nicht wahrheitsgemäß auf die Frage nach dem Konsum von Genussmitteln antworten. Sie neigen dazu, niedrigere Dosen anzugeben, als sie tatsächlich zu sich nehmen.

Obwohl die Anzahl der Raucher seit 1965 von 42,4% auf 19,8% gesunken ist, zeigt sich bei den US- Amerikanern eine Zunahme der täglich rauchenden Bevölkerung. So sind im Jahr 2006 20,8% der Gesamtbevölkerung (45,3 Mio. Menschen) Raucher, von denen 80% jeden Tag und 19,9% gelegentlich rauchen (Mehta, Yu et al. 2010). Auch der Anteil der Frauen ist gestiegen, was u. a. an gezielter Werbung nach dem 2. Weltkrieg und in den 1970er Jahren seitens der Tabakindustrie liegen kann (Jemal, Thun et al. 2008). Dies ist insofern von Bedeutung, als dass Frauen schlechtere 5-Jahres- Überlebensraten bei oralen Karzinomen aufweisen als Männer und die Tumore bei weiblichen Rauchern und Gewohnheitsrauchern zunehmend weniger gut differenziert sind, vor allem an Stellen, die dem Tabak vermehrt ausgesetzt sind wie Mundboden, Gingiva, Wange und das Vestibulum (Mehta, Yu et al. 2010).

Zunehmende Aufklärung ist nötig, um den positiven Trend, den Dahlstrom et al. beschrieben haben, fortzuführen. So waren unter den Karzinompatienten an ihrem Institut von 1955- 1995 noch weniger als ein Drittel Nicht- oder ehemalige Raucher. Von 1995- 2004 waren es zwei Drittel, was sich in einer besseren Prognose und erhöhter Überlebensrate niederschlug. Der Alkoholkonsum ihrer Patienten veränderte sich im Laufe der Jahre nicht (Dahlstrom, Calzada et al. 2013). Dabei steigt die Inzidenz für ein orales Karzinom bei einem Konsum von mehr als 30g Ethanol pro Tag auf das 2,7-fache. Es bestand kein Unterschied, ob es in Form von Wein, Bier oder hochprozentiger Getränke aufgenommen wird (Maasland, Kremer et al. 2013). Hier besteht unter der Bevölkerung Aufklärungsbedarf. Nur bei 50% der im Rahmen einer Telefonumfrage in Schleswig- Holstein interviewten Probanden konnte Alkohol als einen Risikofaktor für ein orales Karzinom identifiziert werden (Hertrampf, Wenz et al. 2012).

In der Studie von Volmajer lag der Wert fehlender Angaben bei 8%. 30,1% der Patienten waren Raucher, während 61,9% angaben nicht zu rauchen (Volmajer 2012). Liu et al. konnten bei 12,5% der Patienten keine Angaben zum Nikotinkonsum und bei

ebenso vielen Patienten zum Alkoholenuss machen. 60% der Befragten gaben an weder Nikotin noch Alkohol zu sich zu nehmen, während 27% beides entweder aktuell oder in naher Vergangenheit konsumiert haben (Liu, Shi et al. 2012). Raucher sind in beiden Studien in der Minderheit, was auch den Beobachtungen der oben genannten Autoren entspricht.

Bei Rauchern sind häufiger als bei Nichtrauchern Hyperkeratosen zu beobachten. Diese können sich zurückbilden, wenn der auslösende Reiz ausbleibt. Wird eine solche Veränderung bei einem Nichtraucher beobachtet, muss der Patient in engmaschigen Kontrollen untersucht werden, da die idiopathische Form mit einem erhöhten malignen Transformationsrisiko einhergeht. In diesem Fall ist eine chirurgische Biopsie indiziert.

Bürstenzytologie

Die Studienlage zum Gebrauch der Bürstenzytologie ist derzeit inhomogen, was eine abschließende Aussage zu deren Gebrauch erschwert. Die erfolgten Untersuchungen wurden ohne standardisierte Entnahmetechnik, mit verschiedenen statistischen Auswertungsverfahren und verschiedenen Instrumenten zur Zellsammlung durchgeführt. Zu bedenken ist auch, dass sowohl die Aufarbeitung der Zellen als auch die zytologische Untersuchung mit verschiedenen Methoden wie die Computer-assistierte, konventionelle oder liquid- based Zytologie erfolgte (Fontes, Cunha et al. 2013). Auch die Indikationsstellungen sind in keiner vergleichbaren Studie so eng gefasst wie in der vorliegenden auf Basis der Leitlinien- Empfehlung, sodass klinisch suspekta und malignitätsverdächtige Läsionen häufig integriert wurden. Vor allem bei diesen Verdachtsdiagnosen ist eine hohe Sicherheit der Diagnosemethode gefordert und eine Diskrepanz zwischen Skalpell und Bürstenzytologie von 55,6%, wie von Goodson et al. berichtet, nicht akzeptabel (Goodson, Wadhera et al. 2013). Potter et al. gaben eine Falsch- Negativ- Rate von 3,5% an, was in Anbetracht der Tatsache, dass nicht eine Screening- sondern eine Diagnosemethode eruiert werden soll, bedenklich ist (Potter, Summerlin et al. 2003).

Aktuell können sogenannte Indextests, wie Vitalfärbung, orale Zytologie und Licht-basierte Methoden, die An- oder Abwesenheit eines oralen Plattenepithelkarzinoms nicht mit Sicherheit feststellen (Liu, Walsh et al. 2012). Diesen Standpunkt vertreten auch die US- Amerikanischen Kollegen in ihren Empfehlungen: Für eine valide Untersuchung klinisch nicht- suspekter Läsionen gibt es keine suffiziente Evidenz. Das bedeutet, dass diese Methode weder als effektiv noch als ineffektiv gilt, sondern wegen

des Evidenzmangels nicht beurteilt werden kann. Sie räumen ein, dass epitheliale Dysplasien zwar durch eine Bürstenzytologie erkannt werden können, aber Goldstandard noch immer die Skalpelliopsie ist (Rethman, Carpenter et al. 2010).

Um dem Patienten zwei Prozeduren für ein Ergebnis zu ersparen, sollte bei Verdacht auf hochgradige Dysplasien oder maligne entartete Zellen direkt eine Gewebeprobe chirurgisch gewonnen werden.

Durch fehlerhafte Anwendung kann die Rate an falschen- negativen Ergebnissen zunehmen. Das Hauptproblem stellt der „sampling error“ dar. Gründe hierfür sind:

- Die Textur der Bürste, die verhindert, dass die Borsten tief genug ins Epithel eindringen können.
- Eine breite superfizielle keratotische Epithelschicht, die es zu durchdringen gilt, um dysplastische Zellen zu erreichen.
- Eine intakte superfizielle Epithelschicht, durch die die Borsten nicht dringen können.
- nicht ausreichend Zellmaterial verbleibt in den Borsten.

Aber auch der „geographic error“ ist ein Problem:

- Die Entnahmestelle enthielt trotz korrekter Lokalisation der Bürste für die Läsion nicht repräsentatives Zellgut.
- Der Anwender hat die Probe an der falschen Stelle genommen.
- Der Anwender hat eine Bürste für die Untersuchung mehrerer Läsionen genutzt.

Die oben genannten Punkte spiegeln das Verhalten einiger Anwender der vorliegenden Studie wieder. Es wurden Begleitscheine eingeschickt, auf denen zur Lokalisation der Entnahmestelle lediglich „Mundschleimhaut“, „Oberkiefer“ oder „Unterkiefer“ vermerkt war. Es ist denkbar, dass sie die Bürste an mehr als einer Stelle angewendet haben, um eine Erkrankung auszuschließen.

Somit ist auch das Ermitteln der Sensitivität und Spezifität anhand der vorliegenden Daten nicht möglich, weil nicht sicher ist, ob die Probeentnahme korrekt erfolgt ist. Die individuelle Handhabung dieses Tools durch die Anwender führt zu Ungenauigkeiten und Unterschieden bei der Probensammlung.

Die in der vorliegenden Studie verwendete Bürste (Cytobrush[®] Plus) ist in der Textur sehr nachgiebig, was es erschwert, in basale Epithelschichten durchzudringen. Sie wurde ursprünglich für den gynäkologischen Anwendungsbereich konstruiert. Kämmerer et al. fordern ein aggressiveres Bürstendesign, um die Rate der falsch-

negativen Ergebnisse weiter zu minimieren (Kämmerer, Koch et al. 2013). Es wird eine Gestaltung der Bürste gefordert, die sicher stellt, dass im Ausstrich Zellen aus jeder epithelialen Schicht enthalten sind (Joshi und Kaijkar 2013).

Die Hemmschwelle anstatt des Skalpells die Bürste zu nutzen, liegt bei vielen Zahnärzten und Patienten aufgrund des non- invasiven, schnellen und kostengünstigen Verfahrens niedriger. Weil durch falsche Handhabung oder Indikationsstellungen falsch-negative Ergebnisse vermeidliche Sicherheit bieten, kann es zu einer nicht tolerablen Therapieverzögerung bei Karzinompatienten kommen. Die Anwendung der oralen Bürstenzytologie sollte daher sinnvoll an Fortbildungen und Training gebunden werden, um auch bei niedergelassenen Zahnärzten einen universitären Wissenstand erreichen zu können.

S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Die Leitlinie definiert die Indikationen für die Anwendung der oralen Bürstenzytologie klar. Retrospektiv betrachtet zeigt sich seit ihrer Veröffentlichung im Jahr 2010 keine Änderung im Umgang der Zahnärzte mit der Bürstenzytologie trotz der gegebenen Empfehlungen. Noch immer wird sie in 40% der Fälle nicht korrekt angewendet.

Im September 2012 wurde eine Leitlinie der Onkologen zur Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms fertig gestellt (Wolff, Follmann et al. 2012). Demnach ist die übliche Form der Gewebegewinnung nach wie vor die Inzisionsbiopsie. Sollte die Bürstenzytologie dennoch genutzt werden, muss auf eine ausreichende Eindringtiefe geachtet werden.

Auch die amerikanischen Kollegen geben die Empfehlung bei Malignitätsverdacht eine chirurgische Biopsie mit histopathologischer Untersuchung durchzuführen bzw. von einem Kollegen durchführen zu lassen, der Erfahrung in der Diagnose und Umgang mit Mundschleimhauterkrankungen hat (Rethman, Carpenter et al. 2010).

In Anbetracht der Tatsache, dass nun zwei Leitlinien die Indikation für die Bürstenzytologie einschränken, muss erwähnt werden, dass sie zwar nur eine evidenzbasierte Handlungsempfehlung darstellen, aber bei juristischen Verfahren zurate gezogen werden können (Europarat 2002). In begründeten Einzelfällen, die verantwortungsbewusst unterschieden und gut in der Patientenakte notiert werden sollten, kann man von der Leitlinie abweichen. In diesem Fall ist die umfassende

Aufklärung des Patienten, vor allem vor dem Hintergrund des aktuellen Patientenrechtegesetzes, obligat.

Nicht nur Zahnärzte sollten sensibilisiert werden. Auch Patienten sollten halbjährlich zu Kontrolluntersuchungen erscheinen. Im Vergleich zu Patienten, die mindestens einmal jährlich zur zahnärztlichen Durchsicht erschienen, wurden orale und pharyngeale Plattenepithelkarzinome in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert, wenn Patienten seltener oder nie zum Zahnarzt gingen (Langevin, Michaud et al. 2012). Vor allem die Kontrolle einer bestehenden homogenen Leukoplakie oder eines OLP sollte halbjährlich durchgeführt werden. Obwohl deutsche Krankenkassen die Probeentnahme mittels Bürste nach der BEMA- Position 05 nur einmal in 12 Monaten bezuschussen, sollte nach Aufklärung des Patienten über Kosten und Nutzen des Verfahrens im Rahmen der Kontrolle eine zytologische Untersuchung durchgeführt werden. Durch ein rechtzeitiges Erkennen maligner Transformation lassen sich die Morbidität, Mortalität und auch Folgekosten der Gesundheitsfürsorge senken (Jacobson, Epstein et al. 2012).

8. Schlussfolgerung

In dieser retrospektiven Studie wurden 1499 Einsendungen oraler Bürstenzytologien über drei Jahre auf eine korrekte Indikationsstellung untersucht. Die Studie wurde an die von der DGZMK im Jahr 2010 veröffentlichte Leitlinie angelehnt.

Während 60% der Indikationen richtig gestellt wurden, verblieben 40%, denen eine klinische Verdachtsdiagnose zu entnehmen war, die durch eine zytologische Analyse nicht zu verifizieren ist.

Ausgehend davon, dass die häufigste Fehlerquelle unvollständig bzw. inkorrekt ausgefüllte Begleitscheine darstellte, wäre eine Optimierung nötig. Entscheidungshilfen in Form von anzukreuzenden Verdachtsdiagnosen sind hierbei hilfreich die Auswahlmöglichkeiten leitlinienorientiert einzuschränken. Angaben zu der Lokalisation der Entnahmestelle und Lebensgewohnheiten (Nikotin- und Alkoholkonsum, Ernährung) sollten so detailliert wie möglich gegeben werden, um das individuelle Risiko einer malignen Transformation jedes Patienten einschätzen zu können. Eine Anleitung zum korrekten Ausfüllen mit klinischen Bildern der indizierten Läsionen könnte helfen, den Anwender zu sensibilisieren und zu trainieren.

Möglichkeiten und Grenzen der oralen Bürstenzytologie sind u. a. in der Leitlinie beschrieben. Durch ausgedehnte Maßnahmen, die sowohl in der zahnärztlichen Fachliteratur als auch in persönlichen Anschreiben an Anwender bestehen können, sollte die Indikationen und Kontraindikationen in den Fokus des Zahnarztes gerückt werden.

Zusätzlich sollten Patienten sensibilisiert werden. Die DGZMK hat zu diesem Zweck Informationsbroschüren gestaltet, die in jeder Praxis zu finden sein sollten. Betroffene Patienten mit potentiell malignen Läsionen können so über ihre Krankheit informiert werden und finden eine Anleitung zur Integration neuer Lebensgewohnheiten in den Alltag. Auch die Notwendigkeit regelmäßiger Kontrollen muss dem Patienten bewusst gemacht werden. Diese Broschüren sollten Bestandteil jeder Behandlung von Mundschleimhautläsionen werden.

Die orale Bürstenzytologie bietet dem behandelnden Zahnarzt und Patienten mit nicht-tumorverdächtigen Läsionen eine Möglichkeit der non- invasiven und kostengünstigen

Überwachung. Da eine falsche Anwendung und inkorrekte Indikationsstellung schwerwiegende Folgen haben kann, sollten Anwender stetig fortgebildet und trainiert werden. Auch die zur Verfügung stehenden Entscheidungshilfen in Form von Leitlinien sollten durch Fortbildungsprogramme und unterschiedliche Medien mehr Einzug in den Praxisalltag niedergelassener Zahnärzte finden.

Bei fehlerfreier Anwendung stellt die Bürstenzytologie auf Basis der bis dato existierenden Evidenzen eine gute Ergänzung zur Beobachtung der homogenen Leukoplakie und des OLP aber auch zur Diagnose einer oralen Candidiasis dar.

9. Literaturverzeichnis

1. Abd Rahman ZA, Nabillah Ghani WM, Kallarakkal TG, Fan CY, Awan KH, Abraham MT, Lau SH, Wan Mustafa WM, Warnakulasuriya S, Cheong SC. "OP121: Malignant transformation of oral potentially malignant disorders." *Oral Oncology* 49: S51 (2013).
2. Akinkugbe A. und Lucas-Perry E. "Trends in Dental Visits Among the US Non-Institutionalized Civilian Population: Findings From BRFSS 1995-2008." *Journal of Theory and Practice of Dental Public Health* 1(2) (2013).
3. Anderson, P. "Global use of alcohol, drugs and tobacco." *Drug Alcohol Rev* 25(6): 489-502 (2006).
4. Awan K, Yang Y, Morgan P, Warnakulasuriya S. "Utility of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of potentially malignant disorders of the oral cavity- a clinical and histological assessment." *Oral Dis* 18(8): 728-733 (2012).
5. Axell T, Pindborg JJ, Smith CJ, van der Waal I. "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(2): 49-54 (1996).
6. Babshet M, Nandimath K, Pervatkar S, Naikmasur V. "Efficacy of oral brush cytology in the evaluation of the oral premalignant and malignant lesions." *J Cytol* 28(4): 165-172 (2011).
7. Bagan J, Scully C, Jimenez Y, Martorell M. "Proliferative verrucous leukoplakia: a concise update." *Oral Dis* 16(4): 328-332 (2010).
8. Bagan JV, Jimenez-Soriano Y, Diaz-Fernandez JM, Murillo-Cortes J, Sanchis-Bielsa JM, Poveda-Roda R, Bagan L. "Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: a series of 55 cases." *Oral Oncol* 47(8): 732-735 (2011).
9. Baletic N, Malicevic H, Petrovic Z, Marinkovic-Eric J Peric A. "Advantages and limitations of the autofluorescent diagnostics of the laryngeal cancer and precancerosis." *Eur Arch Otorhinolaryngol* 267(6): 925-931 (2010).
10. Balevi B. "Assessing the usefulness of three adjunctive diagnostic devices for oral cancer screening: a probabilistic approach." *Community Dent Oral Epidemiol* 39(2): 171-176 (2011).

11. Bánóczy J. "Follow-up studies in oral leukoplakia." *J Maxillofac Surg* 5(1): 69-75 (1977).
12. Barnes L, Everson J, Reichart P, Sidransky D, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*, IARC Press (2005).
13. Böcking A, Giroud F, Reith A. "Consensus report of the ESACP task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry. European Society for Analytical Cellular Pathology." *Anal Cell Pathol* 8(1): 67-74 (1995).
14. Böcking A, Sproll C, Stocklein N, Naujoks C, Depprich R, Kubler NR, Handschel J. "Role of brush biopsy and DNA cytometry for prevention, diagnosis, therapy, and followup care of oral cancer." *J Oncol* 2011: 875959 (2011).
15. Bradley G, Odell EW, Raphael S, Ho J, Le LW, Benchimol S, Kamel-Reid S. "Abnormal DNA content in oral epithelial dysplasia is associated with increased risk of progression to carcinoma." *Br J Cancer* 103(9): 1432-1442 (2010).
16. Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. "Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008." *Int J Cancer* 132(5): 1133-1145 (2013).
17. Bremmer JF, Graveland AP, Brink A, Braakhuis BJ, Kuik DJ, Leemans CR, Bloemena E, van der Waal I, Brakenhoff IH. "Screening for oral precancer with noninvasive genetic cytology." *Cancer Prev Res (Phila)* 2(2): 128-133 (2009).
18. Brocklehurst P, Kujan O, Glenny AM, Oliver R, Sloan P, Ogden G, Shepherd S. "Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer." *Cochrane Database Syst Rev*(11): CD004150 (2010).
19. Burghardt E. "Die formale Entwicklung des Plattenepithelkrebses der Cervix uteri." *Arch Gynakol* 207(1): 293-316 (1969).
20. Cardesa A, Mentzel T, Rudolph P, Slootweg PJ, Remmele W, Klöppel G, Kreipe H. *Pathologie: Kopf-Hals-Region, Weichgewebstumoren, Haut*, Springer (2008).
21. Chiu CT, Li CF, Li JR, Wang J, Chuang CY, Chiang WF, Huang SC, Chang SW. "Candida invasion and influences in smoking patients with multiple oral leucoplakias--a retrospective study." *Mycoses* 54(5): e377-383 (2011).
22. Cox M, Kopp I, König I, Lelgemann M, Müller W, Ollenschläger G, Rütters D, Sängler S, Thalau F, Thole H, Trapp H. "Leitlinien- Glossar." *äzq Schriftreihe Band 30*: 75 (2007).
23. Dahlstrom KR, Calzada G, Hanby JD, Garden AS, Glisson BS, Li G, Roberts DB, Weber RS, Sturgis EM. "An evolution in demographics, treatment, and outcomes

- of oropharyngeal cancer at a major cancer center: a staging system in need of repair." *Cancer* 119(1): 81-89 (2013).
24. Dhingra V, Mehrotra R. Historical Development of Oral Cytology. *Oral Cytology*. R. Mehrotra, Springer New York: 5-10 (2013).
 25. Drenckhahn, D. Mundhöhle. Anatomie. A. Benninghoff and D. Drenckhahn. München, Jena, Urban & Fischer Verlag. Bd 1: 594- 623 (2003).
 26. Driemel O, Dahse R, Hakim SG, Tsioutsias T, Pistner H, Reichert TE, Kosmehl H. "Laminin-5 immunocytochemistry: a new tool for identifying dysplastic cells in oral brush biopsies." *Cytopathology* 18(6): 348-355 (2007).
 27. Driemel O, Kosmehl H, Rosenhahn J, Berndt A, Reichert TE, Zardi L, Dahse L. "Expression analysis of extracellular matrix components in brush biopsies of oral lesions." *Anticancer Res* 27(3B): 1565-1570 (2007).
 28. Driemel O, Kunkel M, Hullmann M, Kleinsasser N, Staudenmaier R, Müller-Richter U, Reichert TE, Kosmehl H. "Wertigkeit der konventionellen oralen Bürstenbiopsie." *HNO* 56(2): 205-210 (2008).
 29. Du X, Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. "Penetration of N-nitrosornicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine." *J Oral Pathol Med* 29(2): 80-85 (2000).
 30. Ebhardt H, Schmidt- Westhausen, AM. "Die Leukoplakie der Mundschleimhaut: Diagnostik- Therapie- Prognose." *Oralchirurgie Journal* 3 (2010).
 31. Egger H, Hommel G, Michalzik K. "Portio-Abschabung und Cervix-Curettage-eine Alternative zur Konisation bei positiver Cytologie." *Archives of gynecology* 227(3): 249-265 (1979).
 32. Epstein JB, Guneri P. "The adjunctive role of toluidine blue in detection of oral premalignant and malignant lesions." *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 17(2): 79-87 (2009).
 33. Europarat, Verbindung der Schweizer Ärztinnen und Ärzte, Ärztliche Zentralstelle Qualitätssicherung. "Entwicklung einer Methodik für die Ausarbeitung von Leitlinien für optimale medizinische Praxis. Empfehlung Rec (2001) 13 des Europarates am 10. Oktober 2001 und Erläuterndes Memorandum. Deutschsprachige Ausgabe." *Z Arztl Fortbild Qualitätssich* 96(Suppl III): 19-20 (2002).
 34. Feller L, Lemmer J. "Oral Leukoplakia as It Relates to HPV Infection: A Review." *Int J Dent* 2012: 540561 (2012).

35. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. "Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008." *Int J Cancer* 127(12): 2893-2917 (2010).
36. Fontes KB, Cunha KS, Rodrigues FR, Silva LE, Dias EP. "Concordance between cytopathology and incisional biopsy in the diagnosis of oral squamous cell carcinoma." *Braz Oral Res* 27(2): 122-127 (2013).
37. Freedman ND, Abnet CC, Leitzmann MF, Hollenbeck AR, Schatzkin A. "Prospective investigation of the cigarette smoking-head and neck cancer association by sex." *Cancer* 110(7): 1593-1601 (2007).
38. Gainza-Cirauqui ML, Nieminen MT, Novak Frazer L, Aguirre-Urizar JM, Moragues MD, Rautemaa R. "Production of carcinogenic acetaldehyde by *Candida albicans* from patients with potentially malignant oral mucosal disorders." *J Oral Pathol Med* 42(3):243-9 (2012).
39. Goodson ML, Wadhera V, Johnson S, Sloan P, Robinson M, Thomson PJ. "PP011: Brush versus scalpel: Consensus agreement on orcellex brush cytology versus incisional biopsy." *Oral Oncology* 49: S96-S97 (2013).
40. Greenberg MS. "The "brush" controversy." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 93(3): 217-218 (2002).
41. Güneri P, Epstein JB, Ergun S, Boyacioglu H. "Toluidine blue color perception in identification of oral mucosal lesions." *Clin Oral Investig* 15(3): 337-345 (2011).
42. Hecht SS. "Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms." *Langenbecks Arch Surg* 391(6): 603-613 (2006).
43. Hecht SS, Carmella SG, Murphy SE, Riley WT, Le C, Luo X, Mooney M, Hatsukami DK. "Similar exposure to a tobacco-specific carcinogen in smokeless tobacco users and cigarette smokers." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16(8): 1567-1572 (2007).
44. Helkimo E, Carlsson GE, Helkimo M. "Bite force and state of dentition." *Acta Odontol Scand* 35(6): 297-303 (1977).
45. Hertrampf K, Wenz HJ, Koller M, Wiltfang J. "Comparing dentists' and the public's awareness about oral cancer in a community-based study in Northern Germany." *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 40(1): 28-32 (2012).
46. Hertrampf K, Wenz HJ, Koller M, Wiltfang J. "Public awareness about prevention and early detection of oral cancer: a population-based study in Northern Germany." *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 40(3): e82-e86 (2012).

47. Hertrampf K, Wenz HJ, Koller M, Grund S, Wiltfang J. "The oral cancer knowledge of dentists in Northern Germany after educational intervention." *European Journal of Cancer Prevention* 20(5): 431-437 (2011).
48. Hertrampf K, Wiltfang J, Koller M, Klosa K, Wenz HJ. "Dentists' perspectives on oral cancer: a survey in Northern Germany and a comparison with international data." *European Journal of Cancer Prevention* 19(2): 144-152 (2010).
49. Hohenester E, Yurchenco PD. "Laminins in basement membrane assembly." *Cell Adh Migr* 7(1): 56-63 (2013).
50. Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. "Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions." *Oral Oncol* 42(5): 461-474 (2006).
51. Howie NM, Trigkas TK, Cruchley AT, Wertz PW, Squier CA, Williams DM. "Short-term exposure to alcohol increases the permeability of human oral mucosa." *Oral Dis* 7(6): 349-354 (2001).
52. Hullmann M, Kunkel M, Reichert TE. "Diagnostik und Therapie oraler präkanzeröser Läsionen." *Der MKG-Chirurg* 3(1): 7-15 (2010).
53. Hullmann M, Reichert TE, Dahse R, von Eggeling F, Pistner H, Kosmehl H, Driemel O. "Orale Zytologie- Historische Entwicklung, aktueller Stand und Ausblick." *Mund Kiefer Gesichtschir* 11(1): 1-9 (2007).
54. Jacobson JJ, Epstein JB, Eichmiller FC, Gibson TB, Carls SG, Vogtmann E, Wang S, Murphy B. "The cost burden of oral, oral pharyngeal, and salivary gland cancers in three groups: commercial insurance, Medicare, and Medicaid." *Head Neck Oncol* 4: 15 (2012).
55. Jemal A, Thun MJ, Ries LA, Howe HL, Weir HK, Center MM, Ward E, Wu XC, Ehemann C, Anderson R, Ajani UA, Kohler B, Edwards BK. "Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control." *J Natl Cancer Inst* 100(23): 1672-1694 (2008).
56. Jones AC, Pink FE, Sandow PL, Stewart CM, CA Migliorati, Baughman RA. "The Cytobrush Plus cell collector in oral cytology." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 77(1): 101-104 (1994).
57. Joshi PS, Kaijkar MS. "Cytomorphometric Analysis of Oral Premalignant and Malignant Lesions Using Feulgen Stain and Exfoliative Brush Cytology." *Journal of Interdisciplinary Histopathology* 1(4) (2013).

58. Kaatsch P, Spix C, Katalinic A, Hentschel S, Baras N, Barnes B, Bertz J, Dahm S, Haberland J, Kraywinkel K. "Krebs in Deutschland 2007/2008 - Häufigkeiten und Trends." Berlin: Robert Koch-Institut (2012).
59. Kämmerer PW, Koch FP, Santoro M, Babaryka G, Biesterfeld S, Brieger J, Kunkel M. "Prospective, blinded comparison of cytology and DNA-image cytometry of brush biopsies for early detection of oral malignancy." *Oral Oncol* 49(5): 420-426 (2013).
60. Kawaguchi K, Nogi M, Ohya M, Nishikawa Y, Kobayashi TK. "The value of the Cytobrush for obtaining cells from the uterine cervix." *Diagn Cytopathol* 3(3): 262-267 (1987).
61. Koch FP, Kunkel M, Biesterfeld S, Wagner W. "Diagnostic efficiency of differentiating small cancerous and precancerous lesions using mucosal brush smears of the oral cavity--a prospective and blinded study." *Clin Oral Investig* 15(5): 763-769 (2011).
62. Kopp IB. "Perspektiven der Leitlinienentwicklung und -implementation aus der Sicht der AWMF." *Zeitschrift für Rheumatologie* 69(4): 298-304 (2010).
63. Kowalski LP, Carvalho AL. "Influence of time delay and clinical upstaging in the prognosis of head and neck cancer." *Oral Oncol* 37(1): 94-98 (2001).
64. Kramer IR, Lucas RB, Pindborg JJ, Sobin LH. "Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 46(4): 518-539 (1978).
65. Kuffer R, Lombardi T. "Premalignant lesions of the oral mucosa. A discussion about the place of oral intraepithelial neoplasia (OIN)." *Oral Oncol* 38(2): 125-130 (2002).
66. Kunkel M, Bengel M, Blume M, Boehme P, Buchholz GE, Follmann M, Frank M, Frerich B, Kreusser B, Löning T, Mohr P, Reichert TE, Remmerbach TW, Rumpf M, Schmidt J, Schütte U, Singer R, Stasche N, Wagner W, Wahl G, Weber A, Weingart D, Wenz HJ, Werkmeister R, Hertrampf K. S2k-Leitlinie: Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde- Langversion für Zahnärzte. Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF): 5- 10 (2010).

67. Kunkel M, Bengel W, Blume M, Boehme P, Buchholz GE, Follmann M, Frank M, Frerich B, Kreusser B, Löning T, Mohr P, Reichert TE, Remmerbach TW, Rumpf M, Schmidt J, Schütte U, Singer R, Stasche N, Wagner W, Wahl G, Weber A, Weingart D, HJ Wenz, Werkmeister R, Hertrampf K. "S2k-Leitlinie: Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde." *Der MKG-Chirurg* 4(3): 206-212 (2011).
68. KZVLB. "KCH- Leistungsspiegel der niedergelassenen Zahnärzte der Kassenzahnärztlichen Vereinigung Land Brandenburg." 3/09- 1/12 (2014).
69. Langevin SM, Michaud DS, Eliot M, Peters ES, McClean MD, Kelsey KT. "Regular dental visits are associated with earlier stage at diagnosis for oral and pharyngeal cancer." *Cancer Causes Control* 23(11): 1821-1829 (2012).
70. Leunig A, Rick K, Stepp H, Goetz A, Baumgartner R, Feyh J. "Photodynamische Diagnostik von Neoplasien der Mundhöhle nach lokaler Applikation von 5-Aminolävulinsäure." *Laryngo-Rhino-Otologie* 75(08): 459-464 (1996).
71. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM. "Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer." *Oral Oncol* 44(1): 10-22 (2008).
72. Liu JLY, Walsh T, Kerr AR, Lingen M, Brocklehurst P, Ogden G, Warnakulasuriya S, Scully C. "Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions." *The Cochrane Library* (2012).
73. Liu W, Bao ZX, Shi LJ, Tang GY, Zhou ZT. "Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: clinicopathological risk factors and outcome analysis in a retrospective cohort of 138 cases." *Histopathology* 59(4): 733-740 (2011).
74. Liu W, Shi LJ, Wu L, Feng JQ, Yang X, Li J, Zhou ZT, Zhang CP. "Oral cancer development in patients with leukoplakia--clinicopathological factors affecting outcome." *PLoS One* 7(4): e34773 (2012).
75. Maasland D, Kremer B, van den Brandt P, Goldbohm S, Schouten L. "OP137: Alcohol consumption, cigarette smoking and risk of subtypes of head-neck cancer: Results from The Netherlands cohort study." *Oral Oncology* 49: S57 (2013).
76. Maraki D, Becker J, Böcking A. "Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer." *J Oral Pathol Med* 33(7): 398-404 (2004).
77. Mehrotra R, Singh MK, Pandya S, Singh M. "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(2): 246-253 (2008).
78. Mehta V, Yu GP, Schantz SP. "Population-based analysis of oral and oropharyngeal carcinoma: changing trends of histopathologic differentiation, survival and patient demographics." *Laryngoscope* 120(11): 2203-2212 (2010).
 79. Micheelis W, Reich E, Heinrich R, Z. r. Institut der Deutschen. Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III) : Ergebnisse, Trends und Problemanalysen auf der Grundlage bevölkerungsrepräsentativer Stichproben in Deutschland 1997. Köln, Deutscher Ärzte-Verlag (1999).
 80. Montgomery PW, Von Haam E. "A study of the exfoliative cytology of oral leucoplakia." *J Dent Res* 30(2): 260-264 (1951).
 81. Muche-Borowski C, Kopp I. "Wie eine Leitlinie entsteht." *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 25(4): 217-223 (2011).
 82. Naugler C. "Practice tips. Brush biopsy sampling of oral lesions." *Can Fam Physician* 54(2): 194 (2008).
 83. Nelke KH, Lysenko L, Leszczyszyn J, Gerber H. "Human papillomavirus and its influence on head and neck cancer predisposition." *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 67(0): 610-616 (2013).
 84. Papanicolaou GN. "A new procedure for staining vaginal smears." *Science* 95(2469): 438-439 (1942).
 85. Patton LL, Epstein JB, Kerr AR. "Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature." *J Am Dent Assoc* 139(7): 896-905; quiz 993-894 (2008).
 86. Pelliccioli AC, Visioli F, Ferreira LA, Danilevich CK, Carrard VC, Rados PV. "Cytogenetic abnormalities in exfoliated oral mucosal cells and their association with oral cancer." *Anal Quant Cytol Histol* 33(5): 271-276 (2011).
 87. Petti S. "Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review." *Oral Oncol* 39(8): 770-780 (2003).
 88. Pöschl G, Stickel F, Wang XD, Seitz HK. "Alcohol and cancer: genetic and nutritional aspects." *Proc Nutr Soc* 63(1): 65-71 (2004).
 89. Potter TJ, Summerlin DJ, Campbell JH. "Oral malignancies associated with negative transepithelial brush biopsy." *J Oral Maxillofac Surg* 61(6): 674-677 (2003).

90. Radlanski RJ. Mundschleimhaut. Curriculum Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie. R. J. Radlanski. Berlin, Quintessenz Verlags-GmbH: 452-520 (2011).
91. Rajput DV, Tupkari JV. "Early detection of oral cancer: PAP and AgNOR staining in brush biopsies." *J Oral Maxillofac Pathol* 14(2): 52-58 (2010).
92. Rautava J, Syrjänen S. "Human papillomavirus infections in the oral mucosa." *J Am Dent Assoc* 142(8): 905-914 (2011).
93. Reichart PA. "Primärprävention des Mundhöhlenkarzinoms und oraler Präkanzerosen." *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* 4(6): 357-364 (2000).
94. Reichart PA. "Orale Leukoplakie/Erythroplakie." Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Zahn-Mund-und Kieferheilkunde. *DZZ* 62(01) (2007).
95. Remmerbach TW, Mathes SN, Weidenbach H, Hemprich A, Böcking A. "Nichtinvasive Bürstenbiopsie als innovative Methode in der Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms." *Mund Kiefer Gesichtschir* 8(4): 229-236 (2004).
96. Remmerbach TW, Meyer-Ebrecht D, Aach T, Wurflinger T, Bell AA, Schneider TE, Nietzke N, Frerich B, Böcking A. "Toward a multimodal cell analysis of brush biopsies for the early detection of oral cancer." *Cancer* 117(3): 228-235 (2009).
97. Rethman MP, Carpenter W, Cohen EE, Epstein J, Evans CA, Flaitz CM, FJ Graham, Hujoel PP, Kalmar JR, Koch WM, Lambert PM, Lingen MW, Oettmeier Jr. BW, Patton LL, Perkins D, Reid BC, Sciubba JJ, Tomar SL, Wyatt Jr. AD, Aravamudhan K, Frantsve-Hawley J, Cleveland JL, Meyer DM, American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Screening for Oral Squamous Cell Carcinomas. "Evidence-based clinical recommendations regarding screening for oral squamous cell carcinomas." *J Am Dent Assoc* 141(5): 509-520 (2010).
98. Sandler HC. "Reliability of Oral Exfoliative Cytology for Detection of Oral Cancer." *J Am Dent Assoc* 68: 489-499 (1964).
99. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T, Reichart PA. "The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases." *Oral Oncol* 40(8): 824-828 (2004).
100. Schleier P, Berndt A, Voth M, Herzau M, Koloßa S, Zenk W, Dietel W, Gawellek M, Kosmehl H. "Möglichkeiten und Grenzen der Fluoreszenzdiagnostik und photodynamischen Therapie des Mundhöhlenkarzinoms." *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 59: 5 (2004).

101. Schmidt- Westhausen AM. Mundschleimhauterkrankungen. Curriculum Zahnärztliche Chirurgie 2. P. H. Reichart, JE; Becker, J; Neukam, FW; Schliephake, H; Schmelzeisen, R Quintessenz Verlags-GmbH: 161- 162 (2002).
102. Sciubba JJ. "Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group." J Am Dent Assoc 130(10): 1445-1457 (1999).
103. Scollo M, Lal A, Hyland A, Glantz S. "Review of the quality of studies on the economic effects of smoke-free policies on the hospitality industry." Tob Control 12(1): 13-20 (2003).
104. Seitz HK. "Alkoholismus als häufigste Ursache für Mangelernährung." deutsches Ärzteblatt 87(9): 676-678 (1990).
105. Sheaff MT, Singh N. Cytopathology: An Introduction, Springer (2012).
106. Shen ZY, Liu W, Zhu LK, Feng JQ, Tang GY, Zhou ZT. "A retrospective clinicopathological study on oral lichen planus and malignant transformation: analysis of 518 cases." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 17(6): e943-947 (2012).
107. Siar CH, Mah MC, Gill PP. "Risk of the contralateral mucosa in patients with oral potentially malignant disorders." Asian Pac J Cancer Prev 12(3): 631-635 (2011).
108. Siebers TJH, van de Winkel T, Otte-Höller I, Slootweg PJ, van der Laak JAMW, Merkx TAW. "OP176: The value of the oral brush in identifying precancerous and cancerous lesions." Oral Oncology 49: S70 (2013).
109. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A. "Chronic alcohol ingestion enhances tumor necrosis factor-alpha expression and salivary gland apoptosis." Alcohol Clin Exp Res 21(8): 1530-1533 (1997).
110. Syrjänen S, Lodi G, von Bultzingslowen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, Challacombe S, Ficarra G, Flaitz C, Zhou HM, Maeda H, Miller C, Jontell M. "Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review." Oral Dis 17 Suppl 1: 58-72 (2011).
111. Traut HF, Papanicolaou GN. "Cancer of the Uterus: The Vaginal Smear in Its Diagnosis." Cal West Med 59(2): 121-122 (1943).
112. van der Waal I. "Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management." Oral Oncol 45(4-5): 317-323 (2009).
113. Virchow R. "Cellularpathologie." Arch Path Anat 8(1): 3-39 (1855).

114. Virchow R. Die Cellularpathologie: in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre, Verlag von August Hirschwald, Berlin (1858).
115. Volmajer J. OralCDx® Computer- assistierte Analyse der Bürstenbiopsie Doctoral thesis, Charité- University Berlin (2012).
116. Waldron CA, Shafer WG. "Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study 3256 oral leukoplakias." *Cancer* 36(4): 1386-1392 (1975).
117. Wang Z, Han B, Zhang Z, Pan J, Xia H. "Expression of angiopoietin-like 4 and tenascin C but not cathepsin C mRNA predicts prognosis of oral tongue squamous cell carcinoma." *Biomarkers* 15(1): 39-46 (2010).
118. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. "Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa." *J Oral Pathol Med* 36(10): 575-580 (2007).
119. Warnakulasuriya S, Kovacevic T, Madden P, Coupland VH, Sperandio M, Odell E, Moller H. "Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England." *J Oral Pathol Med* 40(9): 677-683 (2011).
120. Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J, Dabelsteen E. "Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement." *J Oral Pathol Med* 37(3): 127-133 (2008).
121. Wolff KD, Follmann M, Nast A. "Klinische Leitlinie-Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms." *Deutsches Arzteblatt-Arztliche Mitteilungen-Ausgabe A* 109(48): 829 (2012).
122. Yang SW, Lee YS, Chen TA, Wu CJ, Tsai CN. "Human papillomavirus in oral leukoplakia is no prognostic indicator of malignant transformation." *Cancer Epidemiol* 33(2): 118-122 (2009).
123. Zargaran M, Eshghyar N, Vaziri PB, Mortazavi H. "Immunohistochemical evaluation of type IV collagen and laminin-332 gamma2 chain expression in well-differentiated oral squamous cell carcinoma and oral verrucous carcinoma: a new recommended cut-off." *J Oral Pathol Med* 40(2): 167-173 (2011).

10. Anhang

Abb.1: Begleitschein, der jedem Bürsten- Kit beilieg.

Krankenkasse bzw. Kostenträger Name, Vorname des Versicherten geb. am Kassen-Nr. Versicherten-Nr. Status Betriebsstätten-Nr. Arzt-Nr. Datum	Zentrum für Oralpathologie Dr. med. Harald Ebhardt Facharzt für Pathologie Friedrich-Ebert-Straße 33-34 14469 Potsdam Fon +49 (0)331. 817 034 -0 Fax +49 (0)331. 817 034 -11 www.oralpath.de <input type="checkbox"/> Tel. Benachrichtigung	E.-Nr. Eingegangen am Einsendender Zahnarzt bitte Stempel der Zahnarztpraxis
---	---	---

Antrag auf histologische bzw. zytologische Begutachtung

Anamnese:

Entnahmestelle:

klinische Diagnose:

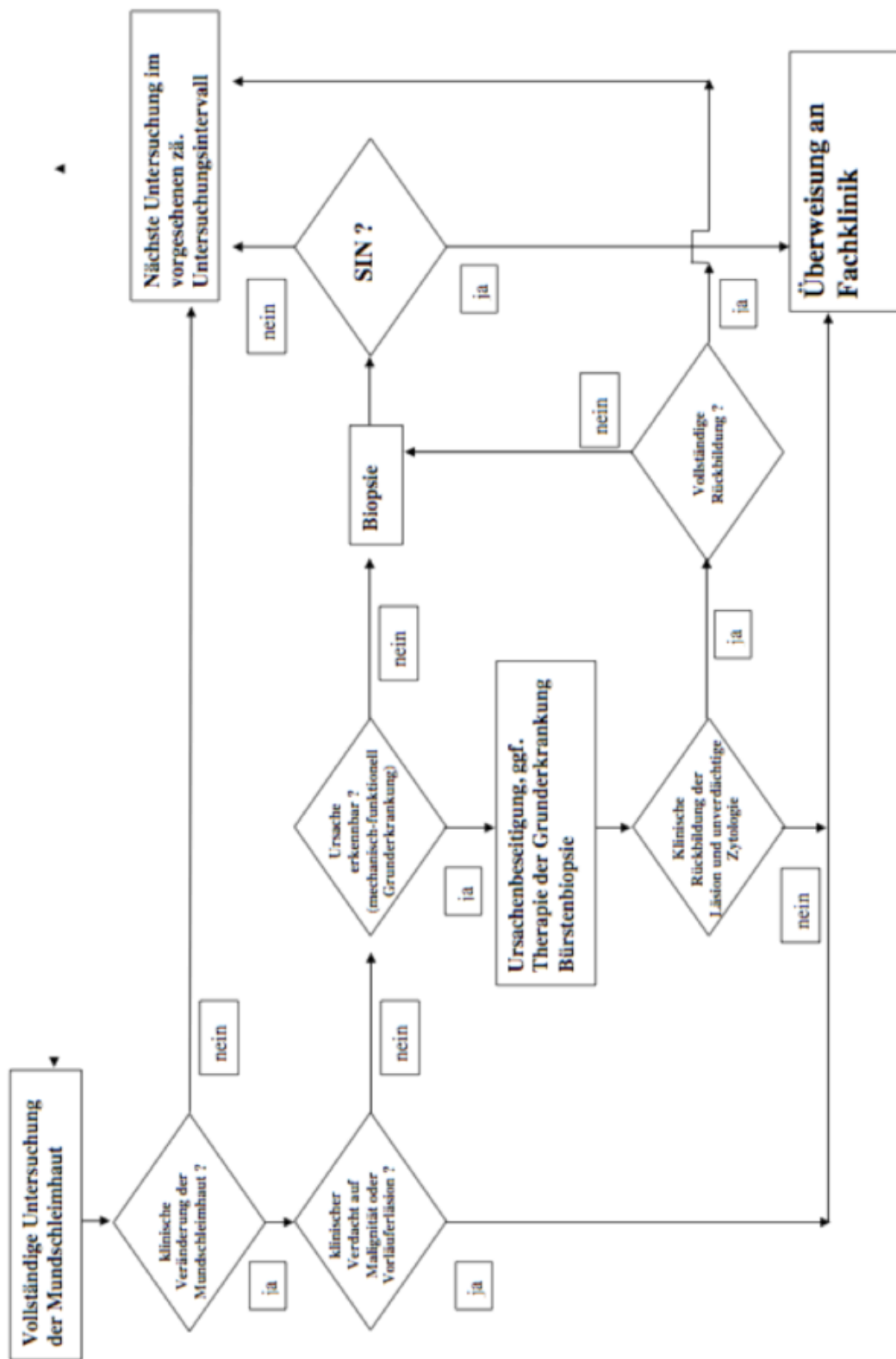
Fragestellung:

Versandmaterial gewünscht? <input type="checkbox"/> Versandbeutel - Stück: <input type="checkbox"/> Formalinröhrchen - Stück: <input type="checkbox"/> Untersuchungsanträge - Stück:	Bürstensenst gewünscht? Preisliste unter www.oralpath.eu <input type="checkbox"/> für 5 Patienten <input type="checkbox"/> für 10 Patienten <input type="checkbox"/> für ____ Patienten	<input type="checkbox"/> Cytospray
---	---	------------------------------------

_____ Datum und Unterschrift

Abb.2: Von den Autoren der s2k- Leitlinie entwickelte Behandlungsalgorithmus für den Umgang mit Mundschleimhautveränderungen.

13. Algorithmus zur Untersuchung der Mundschleimhaut:



11. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Luisa Daniel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Anwendung der oralen Bürstenzytologie in der Diagnostik intraoraler Erkrankungen - Eine retrospektive Studie über drei Jahre ab 2009 bis 2012 auf Grundlage der s2k- Leitlinie der DGZMK“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

12. Curriculum Vitae

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

13. Danksagung

Ich danke ganz herzlich Fr. Prof. Dr. A. M. Schmidt- Westhausen für die Überlassung des Themas und ihre hilfreiche und warmherzige Unterstützung. Nicht zuletzt auch großen Dank für die Zeit, die sie sich für die Betreuung dieser Arbeit genommen hat. Ich fühlte mich stets gut aufgehoben.

Von Herzen möchte Dr. H. Ebhardt danken, der mir immer mit kompetentem Rat zur Seite stand und mich geduldig und uneingeschränkt unterstützte. Er hat nicht nur durch die Bereitstellung der Daten, sondern auch durch viele anregende Diskussionen und eine tatkräftige Betreuung zur Erstellung dieser Arbeit beigetragen.

Vielen Dank auch an Herrn Andreas Böttner für die freundliche statistische Beratung.