

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe - Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. K. Friese

**Die optische Kohärenztomographie -
ein nicht invasives Untersuchungsverfahren zur
Beurteilung von zervikalem Gewebe
Validierung einer neuen Methode in vivo**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Lisa Turk
aus Bozen (I)
2012

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Christian Dannecker

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael Ulbig
Prof. Dr. Werner Meier

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Julia Gallwas

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 19.04.2012

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1 Das Zervixkarzinom | 1 |
| 1.1.1 Epidemiologische Daten: Inzidenz, Mortalität und Prognose | 1 |
| 1.1.2 Risikofaktoren | 5 |
| 1.1.3 Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN), Präkanzerosen der Zervix | 7 |
| 1.1.4 Tumorfrüherkennung, Bedeutung des Screenings | 9 |
| 1.2 Diagnostische Methoden – invasiv und nicht invasiv | 10 |
| 1.2.1 Exfoliativzytologie (Screening)..... | 10 |
| 1.2.2 Dünnschichtzytologie | 12 |
| 1.2.3 HPV-Diagnostik | 13 |
| 1.2.4 Kolposkopie..... | 14 |
| 1.2.5 Histopathologie - Biopsien | 17 |
| 1.3 Optische Methoden zur Tumorfrüherkennung | 18 |
| 1.3.1 Prinzipien optischer Darstellung | 18 |
| 1.4 Optische Kohärenztomographie | 19 |
| 1.4.1 Technisches Prinzip | 19 |
| 1.4.2 Historischer Abriss | 22 |
| 1.4.3 Anwendungsbereiche der OCT, Forschungsinteresse | 24 |
| 1.5 Fragestellung und Zielsetzung..... | 25 |
| 2. Material und Methoden | 27 |
| 2.1 Patientenkollektiv | 27 |
| 2.2 Optische Kohärenztomographie – Time Domain Modell | 28 |
| 2.3 Studiendurchführung | 29 |
| 2.4 Datenauswertung, Bildanalyse und Statistik | 32 |
| 3. Ergebnisse | 34 |
| 3.1 Deskriptive Statistik..... | 34 |
| 3.1.1 Analyse des Patientenkollektivs | 34 |
| 3.1.2 Analyse der biopsierten zervikalen Läsionen | 37 |
| 3.2 Ergebnisse der Kolposkopie | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3 Ergebnisse der OCT | 39 |
| 3.3.1 Unterscheidung gesundes und prämalignes/malignes Gewebe in der OCT | 39 |
| 3.3.2 Unterscheidung anhand der Schichtung | 40 |
| 3.3.3 Auswertung nach zwei Klassen (Cut off CINII bzw. CIN III) | 41 |
| 3.3.4 Genaue Auswertung in Befundklassen | 42 |
| 3.3.5 Übereinstimmung der beiden Untersucher - Cohen's Kappa | 44 |
| 3.4 Bildmorphologie | 45 |
| 3.4.1 Plattenepithel der Ektozervix, inter- und intraindividuelle Variabilität | 45 |
| 3.4.2 Zylinderepithel der Ektozervix und Endozervix in der OCT | 49 |
| 3.4.3 CIN und Karzinome in der OCT und Histologie | 52 |
| 3.4.4 Benigne Veränderungen der Zervix in der OCT und Histologie | 55 |
| 3.5 Quantitative Bildanalyse | 57 |
| 3.5.1 Intensitätsprofile | 57 |
| 4. Diskussion | 60 |
| 4.1 Diskussion von Material und Methoden | 61 |
| 4.2 Diskussion der Ergebnisse | 65 |
| 4.3 Vergleich mit Ergebnissen anderer Studien aus der Gynäkologie | 68 |
| 4.4 Vergleich mit Ergebnissen anderer OCT-Einsatzgebiete | 73 |
| 4.4.1 Optische Kohärenztomographie in der HNO | 74 |
| 4.4.2 Optische Kohärenztomographie in der Urologie | 77 |
| 4.4.3 Optische Kohärenztomographie in der Gastroenterologie | 79 |
| 4.4.4 Optische Kohärenztomographie in der Dermatologie | 80 |
| 4.5 Schlussfolgerung, Ausblick auf die Zukunft | 83 |
| 5. Zusammenfassung und Perspektive | 85 |
| 6. Abbildungsverzeichnis | 88 |
| 7. Tabellenverzeichnis | 90 |
| 8. Literaturverzeichnis | 91 |
| 9. Danksagung | 98 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|---|
| Abb. | Abbildung |
| Abs. | Absatz |
| AGUS | atypische glanduläre Zellen unbekannter Signifikanz |
| AK | Aktinische Keratose |
| ASC-H | atypical squamous cells – can not exclude high grade SIL |
| ASC-US | atypical squamous cells with undetermined significance |
| BiOS | Biomedical Optics |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| CE | Communauté Européenne |
| CIN | cervical intraepithelial neoplasia (zervikale intraepitheliale Neoplasie) |
| CIS | carcinoma in situ |
| CT | Computertomographie |
| d.h. | das heißt |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| EOCT | endoskopisches OCT |
| ERCP | endoskopische retrograde Cholangiopankreatikografie |
| et. al. | Lat. für et alii oder et aliae (und andere) |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FD-OCT | frequence domain optical coherence tomography |
| GKV | gesetzliche Krankenversicherung |
| HCA | Hybrid Capture Assay |
| H.E. | Hämatoxylin und Eosin (-Färbung) |
| HNO | Hals-Nasen-Ohrenheilkunde |
| HPV | Humanes Papilloma-Virus |
| LMU | Ludwig-Maximilians-Universität |
| µm | Mikrometer |
| m | Meter |
| MDL | Michelson Diagnostics Ltd |
| MIS | multispectral imaging system |
| MIT | Massachusetts Institute of Technology |
| MLS | Mikrolaryngoskopie |

| | |
|--------------|---|
| MPT | Multiphotonentomographie |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| n | Anzahl |
| NIR | near infrared range |
| nm | Nanometer |
| NPW | negativ prädiktiver Wert |
| NTCC | New Technologies in Cervical Cancer |
| OCT | optical coherence tomography (Optische Kohärenztomographie) |
| Pap-Abstrich | zytologischer Abstrich der Zervix nach Papanicolaou, dem Erfinder |
| PCR | polymerase chain reaction (Polymerase-Ketten-Reaktion) |
| PPW | positiv prädiktiver Wert |
| RKI | Robert-Koch-Institut |
| RNA | Ribonucleic Acid (Ribonukleinsäure) |
| SCC | squamous cell carcinoma |
| sec | Sekunde |
| SGB | Sozialgesetzbuch |
| SIL | squamöse intraepitheliale Läsion |
| SLD | Superlumineszenzdiode |
| SPIE | Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers |
| sog. | sogenannte |
| SSL | Steinschnittlage |
| Tab. | Tabelle |
| TD-Modell | Time-Domain-Modell |
| TD-OCT | Time-Domain-OCT |
| u.a. | unter anderem |
| u.a.m. | und andere mehr |
| u.v.a.m. | und viele andere mehr |
| v.a. | vor allem |
| VIA | visual inspection with acetic acid |
| vs. | versus |
| WHO | world health organization (Weltgesundheitsorganisation) |
| z.T. | zum Teil |
| § | Paragraph |
| 3D-Bilder | Dreidimensionale Bilder |

1. Einleitung

1.1 Das Zervixkarzinom

1.1.1 Epidemiologische Daten: Inzidenz, Mortalität und Prognose

Der Gebärmutterhalskrebs ist eine Erkrankung vor allem der jüngeren Frauen. Es ist weltweit der zweithäufigste Krebs bei Frauen im Alter zwischen 15 und 44 Jahren [1]. Das Erkrankungsalter beträgt im Mittel 50,4 Jahre und liegt damit ungefähr 19 Jahre unter dem mittleren Erkrankungsalter für alle Krebserkrankungen [2]. Dabei sind, wie in Abbildung 1 dargestellt, 2 Altersgipfel zu beobachten. Der erste Häufigkeitsgipfel tritt zwischen dem 35. und 54. Lebensjahr auf, der zweite nach dem 65. Lebensjahr [3]. Die aktuelle Datenlage der WHO von 2004 (veröffentlicht im Jahre 2009) zeigt, dass jährlich ca. 6.000 Frauen in Deutschland neu an Zervixkarzinom erkranken. Ungefähr 3.000 Frauen sterben jedes Jahr deutschlandweit an dieser Erkrankung [1]. Die altersstandardisierte Neuerkrankungsrate im Jahre 2002 lag laut Aussagen der WHO bzw. des Robert-Koch-Instituts zwischen 10,8 und 13,3 Erkrankungsfällen pro 100.000 Einwohnerinnen (Europastandard) [1,2]. Das Zervixkarzinom liegt damit in Deutschland, was die Inzidenzrangfolge betrifft, mittlerweile an zehnter Stelle aller Krebsneuerkrankungen der Frau [3]. Auch ist der Gebärmutterhalskrebs die dritthäufigste Tumorerkrankung unter allen gynäkologischen Malignomen [2]. Insgesamt nimmt das Zervixkarzinom einen Anteil von 3 % an allen Krebsneuerkrankungen der Frau ein und macht 1,7 % von allen Krebstodesfällen bei Frauen aus [3].

Die Inzidenz der zervikalen Krebsvorstufen liegt dabei im Vergleich zur Karzinominzidenz etwa um den Faktor 100 höher. In Deutschland würde dies einer Inzidenz von 1% gleich kommen. Die Prävalenz von Präkanzerosen bei jüngeren Frauen beträgt weltweit 1-4 % . Die Inzidenz für das Karzinom beträgt auf weltweiter Ebene eine halbe Million Neuerkrankungen pro Jahr [4].

Allein in Deutschland gibt es derzeit eine Population von 36 Millionen Frauen im Alter über 15 Jahren, die das Risiko besitzen, an Gebärmutterhalskrebs zu erkranken und zwar mit einem kumulativen Lebenszeitrisiko von 0,8 % bis zum Alter von 64 Jahren (Angaben der WHO) [1].

Einleitung

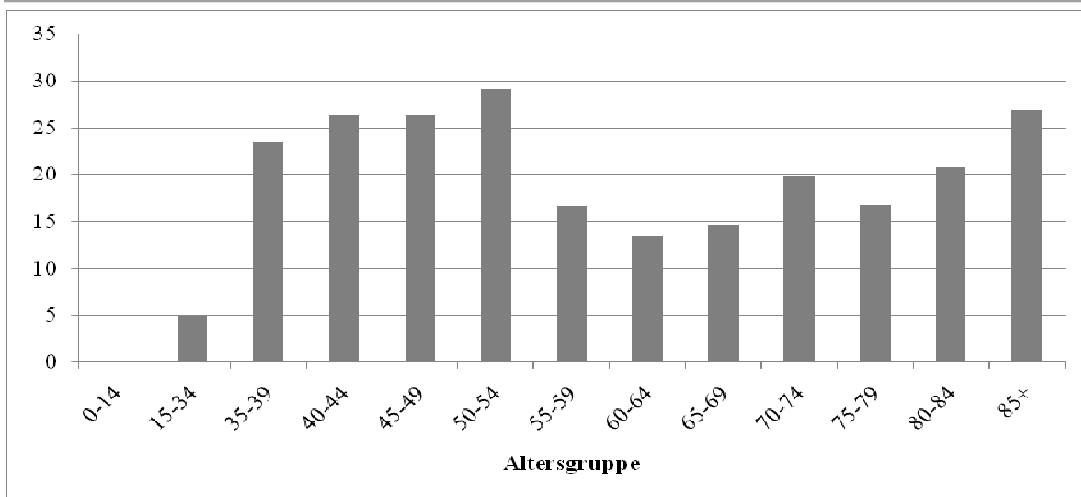


Abbildung 1: Geschätzte altersspezifische Zervixkarzinom-Inzidenz in Deutschland (2004). Neuerkrankungen pro 100.000 in Altersgruppen [3]

In den 1970er Jahren war das Zervixkarzinom noch die häufigste Krebserkrankung der weiblichen Geschlechtsorgane. Seit den 1980er Jahren konnte in Deutschland lange eine deutlich rückläufige Tendenz vermerkt werden. In den letzten Jahren stagnierte allerdings der Verlauf der Neuerkrankungsrate und fiel nicht weiter ab.

Was die Sterberaten des Gebärmutterhalskrebses angeht, war auch in den vergangenen Jahren noch eine deutliche Verbesserung zu sehen [3]. In Abbildung 2 ist die Inzidenzrate im Verlauf der letzten zwei Jahrzehnte der Mortalitätskurve gegenübergestellt.

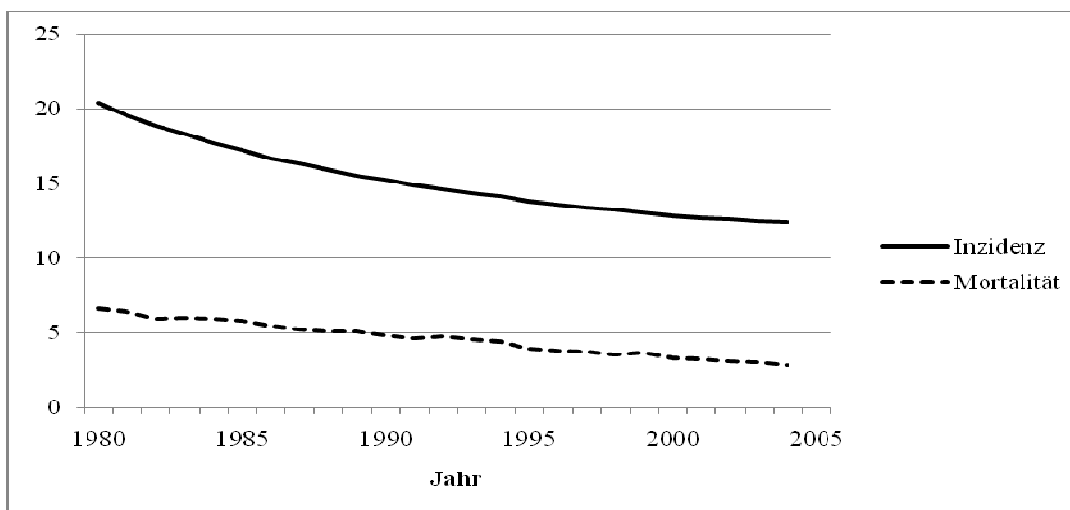


Abbildung 2: Altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität in Deutschland 1980-2004. Fälle pro 100.000 (Europastandard) [3]

Die Mortalität des Gebärmutterhalskrebses konnte seit den 1970er Jahren altersstandardisiert um 55% gesenkt werden [5]. Ein beachtlicher Anteil an diesem

Einleitung

Rückgang wird dem gesetzlichen Krebsfrüherkennungsprogramm eingeräumt, wenngleich auch schon vor dessen Einführung im Jahre 1971 ein Rückgang der Mortalität verzeichnet werden konnte. Die Reduktion von Inzidenz und tumorassoziierter Mortalität konnte nach Einführung des Früherkennungsprogramms jedoch noch nachhaltig gesteigert werden. Trotzdem zeigen epidemiologische Erhebungen im Ländervergleich derzeit für Deutschland noch recht hohe Inzidenzraten. Deutschland ist laut Erhebungen der WHO nach wie vor nach Österreich das Land mit der höchsten altersstandardisierten Inzidenzrate unter den westeuropäischen Ländern [1], wobei hierbei eine Vielzahl an Faktoren beeinflussend eine Rolle spielt. In Abbildung 3 und 4 sind die Inzidenzraten im Ländervergleich dargestellt.

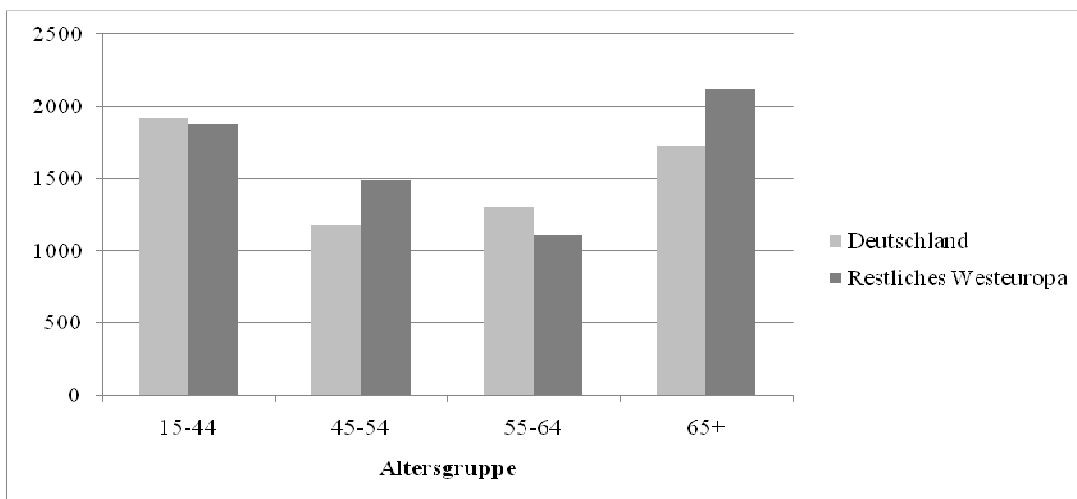


Abbildung 3: Anzahl der Neuerkrankungen in Deutschland im Vergleich zum restlichen Westeuropa (nach Altersgruppen), modifiziert nach Daten der WHO [1]

Einleitung

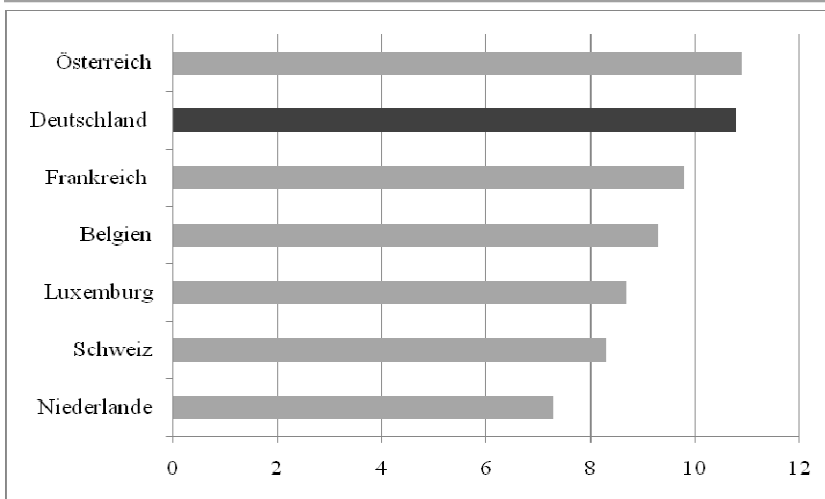


Abbildung 4: Altersstandardisierte Inzidenzrate pro 100.000 Einwohnerinnen pro Jahr, Vergleich zwischen den Westeuropäischen Ländern [1]

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) errechnet für das Jahr 2025 6.614 Zervixkarzinom-Neuerkrankungen in Deutschland. Außerdem sind laut WHO im Jahre 2025 3.533 Sterbefälle zu erwarten. Diese Abschätzung beruht auf der Bevölkerungsvorausberechnung für Deutschland unter der Voraussetzung, dass die aktuellen Inzidenz- und Mortalitätsraten für das Zervixkarzinom über die Zeit konstant bleiben [1].

Die Prognose des invasiven Zervixkarzinoms hat sich in den letzten Jahrzehnten nur in geringem Maße verbessert. Die 5-Jahres-Überlebensrate ist von 60,9% vor dem Jahre 1988 auf 64,5% nach 1988 gestiegen. Die 10-Jahres-Überlebensrate hingegen von 54,9% auf 59%. Somit ist eine Verbesserung von 3,6% für das relative 5-Jahres-Überleben zu verzeichnen und 4,1% was das 10-Jahres-Überleben betrifft [5]. Stadienspezifisch, so haben Erhebungen des Tumorregisters München ergeben, ist kein signifikanter Überlebensunterschied im Vergleich zu den Überlebenszahlen in den 80er Jahren vorhanden. Das verbesserte Überleben im Gesamtkollektiv ist somit wohl auf die Stadienverschiebung zugunsten früherer Stadien mit guter Prognose zurückzuführen [5]. Hinsichtlich der Stadienverteilung bei Erstdiagnose haben sich nämlich einige Veränderungen vollzogen: Mehr als die Hälfte der Zervixkarzinome werden seit 1998 bereits in FIGO-Stadium Ia und Ib erkannt, in den Jahren 1978 bis 1982 lag der Anteil der neuentdeckten Ia- und Ib-Stadien nur etwa halb so hoch [5,6] (Abb. 5). Daten des Tumorregisters München ergaben für die Erstdiagnosen bei Adenokarzinomen 5% in Stadium Ia und 50% in Stadium Ib, wobei Plattenepithelkarzinome grundsätzlich nur in 38,7 % in den Stadien Ia (11,6%) und Ib (27,1%) diagnostiziert wurden. Daneben findet

Einleitung

sich seit den letzten 20 Jahren eine deutliche Abnahme der Stadien IIa und vor allem IIb [6].

An dieser Datenlage wird die Relevanz des verbesserten Früherkennungsprogramms deutlich.

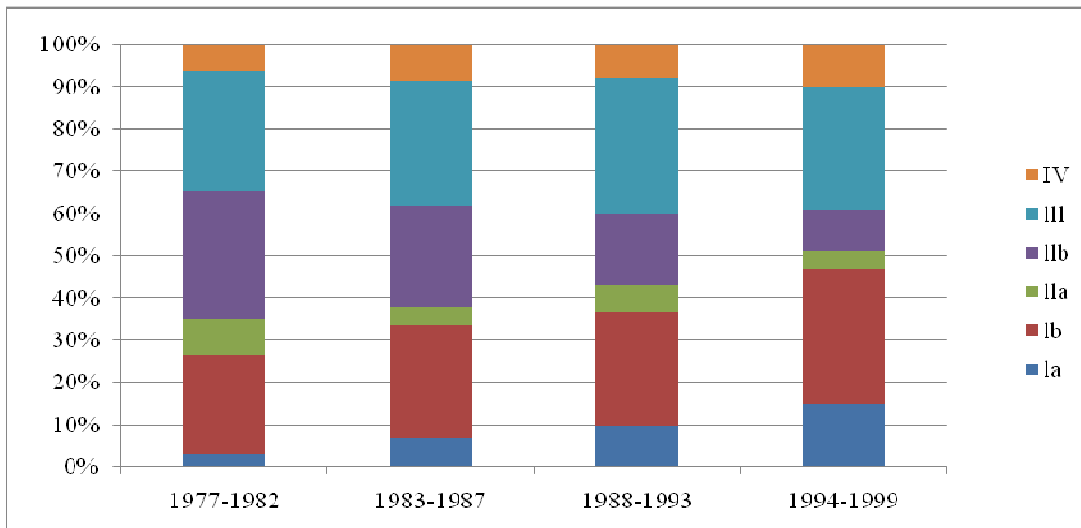


Abbildung 5: Prozentuale Verteilung der FIGO-Stadien in 5 Zeitintervallen seit 1978, modifiziert nach Daten des Tumorregisters München [6]

Die große Mehrheit aller invasiven Zervixkarzinome wird von zwei histologischen Typen eingenommen: 77-81% entfallen auf das Plattenepithelkarzinom (squamous lesions), 11-15% auf das Adenokarzinom (glandular lesions) [4,5]. Spezielle Erscheinungsformen des Zervixkarzinoms sind selten. Das adenosquamöse Karzinom macht 2,5% aus, adenozytische Karzinome und neuroendokrine Formen den Rest. Die Inzidenzrate des Adenokarzinoms ist seit den letzten Jahren tendenziell steigend [5,7]. Aus Mortalitätsraten wurde ersichtlich, dass Patientinnen mit Plattenepithelkarzinomen eine etwas günstigere Prognose haben, als jene mit Adenokarzinomen, wobei nur bei letzteren ein Einfluss des Gradings auf die Prognose verzeichnet werden konnte [5].

1.1.2 Risikofaktoren

Mittlerweile gilt als gesichert, dass die Entstehung des Zervixkarzinoms obligatorisch an sexuelle Aktivität gebunden ist. Dabei stellen sowohl Anzahl der verschiedenen Geschlechtspartner, als auch frühe regelmäßige Sexualekontakte ein erhöhtes Risiko dar.

Einleitung

Letztlich geht es dabei um die Exposition der Zervix gegenüber lokalen Kanzerogenen oder Kokanzerogenen [8].

Von ursächlicher und entscheidender Bedeutung in der Krebsentstehung ist die Infektion mit dem Humanen Papilloma-Virus (HPV). Dabei wird zwischen Viren der sogenannten „lowrisk-Gruppe“ und der „highrisk-Gruppe“ (bezogen auf das Malignitätspotential für die Zervix) unterschieden. HPV 6 und 11 gehören zur Gruppe der lowrisk-Viren und werden eher für die weniger gewichtigen, oft reversiblen Dysplasien verantwortlich gemacht. Eine Infektion mit HPV der sogenannten Hochrisikogruppe stellt ein durchaus größeres Dysplasierisiko dar. Dazu gehören HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 [9]. HPV 16 und 18 zählen innerhalb dieser Gruppe zu den Viren, die rasch zu höheren Atypiegraden führen und mit größerer Hartnäckigkeit und maligner Potenz persistieren. HPV 16 ist dabei der am häufigsten nachgewiesene HPV-Typ. Die Prävalenz des Humanen Papilloma-Virus bei jungen Frauen beträgt weltweit zwischen 5 und 20 % [5]. Das Lebenszeitrisiko einer Frau, einmal an HPV zu erkranken liegt bei über 50%. In 80% der Fälle kann jedoch mit einer Elimination des Virus innerhalb von 2 Jahren gerechnet werden. Nur bei längerer Persistenz besteht die Gefahr der Entstehung einer Krebsvorstufe [10].

Die Infektion mit Viren der Hochrisikogruppe stellt gewissermaßen die notwendige Ursache für die Entstehung des Zervixkarzinoms dar. Bei 90% der Präkanzerosen und bei 98% aller invasiven Karzinome lässt sich das Papillomavirus nachweisen [11,12].

Neben HPV werden zahlreiche andere Risikofaktoren für die Entstehung zervikaler intraepithelialer Neoplasien diskutiert. Faktoren wie Alter, niedriger sozioökonomischer Status, Zigarettenrauchen, Immunsuppression und Ernährungsfaktoren könnten eine Rolle bei der Entstehung zervikaler Dysplasien spielen. Es ist dabei jedoch zu unterscheiden, ob diese Faktoren als unabhängige Risikofaktoren für CIN erachtet werden können oder ob sie nur als Kofaktoren für die Akquirierung und Persistenz von HPV-Infektionen wirken [13].

Dabei seien auch die Infektion mit Herpes simplex-Virus 2 und das Rauchen [14] als mutagene Kofaktoren erwähnt. Eine negative Wirkung der Pille hinsichtlich der Entstehung des Zervixkarzinoms wird kontrovers diskutiert [15,16]. Ihr Einfluss auf das Karzinom als unabhängiger Risikofaktor ist deshalb schwierig zu beurteilen, weil mit der hormonellen Kontrazeption eine entscheidende Veränderung des Sexualverhaltens einhergeht. Auch immunologische und genetische Kofaktoren (HLA-Assoziation z.B.) scheinen eine Rolle zu spielen [13,15]. Der Zusammenhang und die Beziehung all dieser Faktoren mit HPV ist noch nicht zur Gänze geklärt.

1.1.3. Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN), Präkanzerosen der Zervix

Die gesunde Portio uteri ist mit einem mehrreihigen, nicht verhornenden Plattenepithel bedeckt, wobei das Epithel mit seiner horizontalen Schichtung in der gesunden Zervix durch die Basalmembran klar vom Stroma abgegrenzt ist. Der Zervixkanal hingegen ist von einschichtigem Zylinderepithel überzogen. Alle Bereiche der Cervix uteri, die außerhalb des äußeren Muttermundes liegen, werden als Ektozervix, alle Bereiche innerhalb als Endozervix bezeichnet. Die Transformationszone stellt den Übergangsbereich zwischen Zylinderepithel der Endozervix und Plattenepithel der Ektozervix dar. Sie unterliegt ständigen Umbauvorgängen. Durch den Einfluss der Sexualhormone verschiebt sich diese Grenze im Laufe des Lebens einer Frau. Bei Kindern und peri- bzw. postmenopausalen Frauen liegt die Grenzzone häufig im Zervixkanal, bei geschlechtsreifen Frauen verlagert sich die Zone meist nach außen auf die Ektozervix. In diesem Übergangsbereich findet Metaplasie statt, d.h. es werden stimuliert durch Steroidhormone und mechanische/chemische Reize Umbauvorgänge induziert, bei denen es über Zwischenschritte zur Umwandlung des Zylinderepithels (direkt oder indirekt) in sekundär originäres Plattenepithel kommt. Diese Grenzzone ist aufgrund der hohen Zellteilungsraten besonders anfällig für benigne und maligne Veränderungen. Aufgrund der hohen Proliferation ist auch eine erhöhte Sensibilität gegenüber HP-Viren zu erklären [17]. Aus diesen Gründen stellt die Transformationszone die Prädilektionsstelle für die Entstehung von Gebärmutterhalskrebs und dessen Vorstufen dar.

Zum größten Teil gehen einem Zervixkarzinom ebendiese zervikalen Krebsvorstufen voraus. Die Latenzzeit für die Entstehung eines invasiven Karzinoms aus Präkanzerosen beträgt dabei schätzungsweise zwischen 10 und 15 Jahren.

Das Charakteristikum präkanzeröser Läsionen der Zervix ist die Strukturstörung innerhalb des Epithels. Man spricht von einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie (CIN). Hierbei kommt es zur Schichtungsstörung und Entdifferenzierung der Zellen, die in der untersten Schicht des Epithels basalmembrannah ihren Anfang nimmt, und mit ihrem Fortschreiten höher gelegene Epithelbereiche bis an die Oberfläche betrifft. Zugleich lassen sich atypische Zellelemente nachweisen. Die Dysplasie ist also gekennzeichnet durch eine Architekturstörung mit einer zellulären Atypie, die wiederum durch verschobene Kern-Plasma-Relationen, Hyperchromasie, vermehrte mitotische Aktivität und vermehrte Zelldichte ausgezeichnet ist [18]. In Abhängigkeit davon, welches Ausmaß dieser Prozess annimmt, unterscheidet man nach der WHO-Klassifikation zwischen leichten, mittelschweren und schweren Dysplasien oder nach Richart et.al. entsprechend zwischen

Einleitung

CIN I, CIN II, CIN III (Carcinoma in situ, CIS). Letztere sind international angewandte Begriffe für den präkanzerösen Prozess des Zervixepithels und wurden durch Richart et al. im Jahre 1966 eingeführt [19]. Die Graduierung in 3 Klassen beruht auf der Annahme, dass eine Stufe obligat zur nächst höheren fortschreitet. Zur neueren Nomenklatur der WHO nehmen Richart et al 1990 Stellung [20].

An dieser Stelle sei die Definition der Dysplasie in der zweiten Auflage der WHO-Klassifikation angeführt.

Dysplasie: Präkanzeröse Läsion des Plattenepithels, gekennzeichnet durch eine Reifungs- und Schichtungsstörung mit Kernanomalien, Polaritätsverlust, Kernpleomorphien, Hyperchromasie, Doppelkernen und Mitosen [5].

Ein drittes Klassifikationssystem wurde 1988 auf der Bethesda-Konferenz eingeführt. Hier wurde der Begriff der squamösen intraepithelialen Läsion (SIL) geprägt und zwischen zwei Schweregraden unterschieden. Da diese ursprünglich für die Zytologie (unten folgend) konzipiert war, kann SIL auch mit CIN ersetzt werden [20].

In Tabelle 1 sind die 3 Klassifikationssysteme für Dysplasien in der Übersicht dargestellt.

Tabelle 1: Verschiedene Nomenklaturen für Zervixdysplasien, Überblick [5]

| | WHO-Nomenklatur | II. Münchner Schema (Zytologie) | Bethesda-System (Zytologie/Histologie) |
|----------------|-------------------------|--|---|
| CIN I | Leichte Dysplasie | Gruppe IIID | Low-grade SIL |
| CIN II | Mittelschwere Dysplasie | Gruppe IIID | High-grade SIL |
| CIN III | Schwere Dysplasie | Gruppe IVa | High-grade SIL |

Bei den leichten und mäßigen Zervixdysplasien handelt es sich um fakultative Präkanzerosen, d.h. es entsteht nicht notwendigerweise ein invasives Karzinom, die Spontanremissionsraten sind relativ hoch. Unbehandelt entwickelt sich die leichte Dysplasie nur in etwa 11% zu einer schweren Dysplasie und in 1% zu einem invasiven Karzinom [21]. Bei der schweren Dysplasie spricht man hingegen von einer obligaten Präkanzerose, weil sich aufgrund der hohen Progressionsrate sehr häufig ein Karzinom

Einleitung

entwickelt. Die Spontanregressionsraten der einzelnen Dysplasiegrade sind in Tabelle 2 aufgelistet. Die mittlere Regressionsrate beträgt ca. 60 % [21].

Tabelle 2: Spontanverlauf der verschiedenen Dysplasiegrade [21,22]

| | Spontanregression | Persistenz | Progredienz | Invasion |
|----------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-----------------|
| CIN I | 55% | 30% | 15% | 1% |
| CIN II | 40% | 30-40% | 20-30% | 5% |
| CIN III | 10% | 20-40% | 50-70% | 12% |

1.1.4 Tumorfrüherkennung, Bedeutung des Screenings

Das Zervixkarzinom ist eine der wenigen Krebsarten, die durch Früherkennung und Prävention der CIN verhindert werden kann. Identifiziert und therapiert man Präkanzerosen der Zervix rechtzeitig, so gelingt es fast immer, das invasive Karzinom gänzlich zu verhindern.

Das einzige zur Zeit praktizierte Screening-Verfahren ist die Exfoliativzytologie. Das Screening ist gerade deshalb von besonderer Bedeutung, da Krebsvorstufen kaum durch Symptome auffallen. Die Inzidenzzahlen des Zervixkarzinoms sind zwar rückläufig (siehe oben), es ist dennoch nicht zu leugnen, dass das im Moment praktizierte Versorgungssystem sowohl im Screening als auch in der restlichen Tumorfrühdiagnostik einige Schwachstellen aufweist.

Unter diesem Gesichtspunkt sind die vielseitigen Bestrebungen, das Screening zu optimieren, zu verstehen. Hierbei sind vor allem nicht invasive optische Systeme, wie die in dieser Arbeit untersuchte optische Kohärenztomographie, ein erfolgversprechender Ansatz.

Derzeit umfasst die Tumorfrüherkennung folgende Methoden:

- Zellabstrich
- HPV-Testung
- Kolposkopie (mit Essig und/oder Jodprobe)
- Biopsie (histopathologische Untersuchung)

Im nachstehenden Kapitel wird zu den einzelnen Diagnostikverfahren Stellung bezogen.

1.2 Diagnostische Methoden – invasiv und nicht invasiv

1.2.1 Exfoliativzytologie (Screening)

Die Zytologie ist derzeit das einzige anerkannte Screeningverfahren für das Zervixkarzinom. In den 40er Jahren wurde der zytologische Zervixabstrich von Papanicolaou und Traut eingeführt (Pap-Abstrich). Im Jahre 1971 wurde die zytologische Untersuchung in Westdeutschland als Screeningverfahren in den Leistungskatalog der gesetzlichen Krankenkassen (GKV) aufgenommen und bundesweit eingeführt (§ 25, Abs. 2, SGB V, 2000b). Es wurde allen Frauen ab 20 Jahren ein jährlicher kostenloser zytologischer Abstrich des Gebärmutterhalses (Pap-Test) angeboten. Nach der deutschen Wiedervereinigung wurde das Verfahren auch auf die neuen Bundesländer ausgedehnt. Die Teilnahme war im Sinne eines opportunistischen Screenings jeder Frau selbst überlassen. Die Teilnahmerate lag von Anfang an zwischen 30 und 50%. In den letzten Jahren lag die Teilnahmerate im Westen Deutschlands bei 50% und in östlichen Bundesländern mit 47% knapp darunter (1996). Der Erfolg der Einführung des Screeningprogramms zeigte sich nach einer kurzfristigen Zunahme der Inzidenz von Zervixkarzinomen relativ schnell: Im Saarland beispielsweise sank die altersstandardisierte Inzidenz für das invasive Zervixkarzinom im Jahrzehnt nach der Einführung des gesetzlichen Screenings um mehr als 50% [23]. Die Langzeiteffektivität der Früherkennung durch die Exfoliativzytologie wurde allerdings bisher noch in keiner randomisierten Studie bewiesen [5]. Zu Beachten ist in der Beurteilung, dass bereits vor Einführung des Screenings sowohl der Inzidenz- als auch der Mortalitätstrend sinkend war. Dies kann auf die verbesserte klinische Diagnostik und Therapie in den Jahrzehnten zuvor zurückgeführt werden [4].

Die Bundesärztekammer hat im Jahre 1994 Leitlinien erstellt, um die Qualität der Screeningmethode zu gewährleisten und die Methode so weit als möglich zu standardisieren. Die letzte Aktualisierung der Leitlinien erfolgte im Juni 2008.

Nach diesen Leitlinien ist der Pap-Abstrich wie folgt durchzuführen: Unter Sicht auf die Portio wird zu Beginn der Untersuchung (vor jeglicher vaginaler Behandlung) üblicherweise mit einem Watteträger durch Abstreichen Zellmaterial von der endo-ektozervikalen Übergangszone gewonnen. Dieses Material wird sofort auf einem beschrifteten Objektträger ausgestrichen und noch in feuchtem Zustand fixiert (mit 96%igem Isopropylalkohol oder 96%igem vergällten Äthylalkohol). Ersatzweise kann auch ein Fixierungsspray benutzt werden. Die Ausstriche sind mindestens 30 Minuten in der Fixierlösung zu belassen. Im Anschluss wird standardmäßig eine Papanicolaou-

Einleitung

Färbung durchgeführt, um eine ausreichende Beurteilung der Differenzierung von Kern und Plasmaeigenschaften zu garantieren [24].

Die Klassifikation der Abstriche erfolgt gemäß der II. Münchner Nomenklatur (1997 modifiziert), wie in Tabelle 3 dargestellt.

Demgegenüber steht die Bethesda-Klassifikation von 1988 [25] (Tabelle 4).

Tabelle 3: Zellabstrich, Klassifikation II. Münchner Nomenklatur (1997), [5]

| Gruppe | Zytologischer Befund |
|---------------|---|
| I | Normales Zellbild, dem Alter entsprechend |
| II | Entzündliche, degenerative oder metaplastische Veränderungen, Hyper- und Parakeratosen, normale Endometriumzellen, auch nach der Menopause, ferner spezielle Zellbilder |
| III | Unklarer Befund: -schwere entzündliche oder degenerative Veränderungen, die keine Unterscheidung zwischen gut- und bösartig zulässt -auffällige Drüsenzellen, deren Herkunft aus einem Karzinom nicht sicher auszuschließen ist |
| IIID | Zellen einer leichten bis mäßigen Dysplasie |
| IVa | Zellen einer schweren Dysplasie oder eines Carcinoma in situ |
| IVb | Zellen einer schweren Dysplasie oder eines CIS, invasives Karzinom nicht auszuschließen |
| V | Zellen eines invasiven Zervixkarzinoms (Plattenepithelkarzinom, Adenokarzinom oder ein anderer maligner Tumor) |

In einer Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität des Pap-Tests nur 51% erreicht. Das heißt ungefähr jede zweite kranke Frau wird im Pap-Test nicht als krank erkannt. Andererseits hat der Test laut Metaanalyse eine hohe Spezifität (98%), er zeigt also gesunde Frauen auch tatsächlich als negativ an [26]. Der Grund für die niedrige Sensitivität liegt zum Teil immer noch an Entnahme-, Fixierungs- oder Ausstrichfehlern. Die Schwachpunkte des Zytologiescreenings sind demnach derzeit immer noch die schlechte Sensitivität, der schlechte positiv prädiktive Wert und die unzureichende Reproduzierbarkeit [27].

Einleitung

Tabelle 4: Gegenüberstellung von Münchner Nomenklatur und Bethesda-Klassifikation [25]

| Münchner Klassifikation | Bethesda Korrelat |
|--------------------------------|---|
| Gruppe I/II | Normal/reaktive Entzündungszeichen |
| Gruppe III | ASC-H und AGUS – Krebs nicht auszuschließen |
| Gruppe IIID | CIN I-II |
| Gruppe IVa | CIN III, CIS |
| Gruppe IVb | CIS, mikroinvasives Karzinom |
| Gruppe V | Mikroinvasives Karzinom, invasives Karzinom |
| Gruppe IIW – inoffiziell | Schließt mangelhaft und ASC-US ein |

1.2.2 Dünnschichtzytologie

Die Dünnschichtzytologie, auch flüssigkeitsbasierte Zytologie genannt, ist eine spezielle Abstrichentnahme und Aufarbeitung bei der Krebsfrüherkennung des Zervixkarzinoms. Die Dünnschichtzytologie ist gewissermaßen eine Weiterentwicklung des herkömmlichen Pap-Abstrichs und kann als Alternative dazu herangezogen werden. Bisher stellt diese Methode in Deutschland allerdings nur eine individuelle Gesundheitsleistung dar und wird nicht von den gesetzlichen Krankenkassen übernommen. Bisher konnten ThinPrep™ (von der Firma Cytyc) und Sure Path (von Tripath) eine Zulassung durch die Food and Drug Administration (FDA) erlangen [5].

Laut einer Studie von Abulafia et. al. von 2003 besitzt die Dünnschichtzytologie im Screening eine bessere Sensitivität als der herkömmliche Pap-Abstrich bei einer vergleichbaren Spezifität. Zudem sei eine niedrigere Rate von unklaren Befunden zu vermerken [28]. In neueren Studien konnte kein signifikanter Unterschied zwischen herkömmlichem Pap-Abstrich und Dünnschichtzytologie festgestellt werden [29].

In Ländern wie den USA (zu über 70%), in England, Schottland, Irland und der Schweiz hat sich die neue Methode als Screening bewährt und großteils gegenüber dem Pap-Abstrich durchgesetzt. Einer der großen Vorteile dieser speziellen Zytologieentnahme ist, dass bei eventuell unklaren Befunden nachträglich die HPV-Testung als sogenannte Reflex-Testung durchgeführt werden kann.

Trotz durch Studien belegter, relativ zur Exfoliativzytologie besserer Sensitivität ist auch dieses zytologische Screeningverfahren, isoliert durchgeführt, unzureichend. Eine Kombination mit anderen Diagnostikverfahren ist unabdingbar.

1.2.3 HPV-Diagnostik

Für die HPV-Testung stehen derzeit mehrere Methoden zur Verfügung: nicht-amplifizierende Tests und amplifizierende Methoden mit der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR). Für die Anwendung im Routinebereich hat sich von den nicht-amplifizierenden Methoden der Hybrid Capture Assay (HCA) durchgesetzt. Der HCA (HCA-Digene Diagnostics, Silver Spring, MD) ist ein einfacher nicht-radioaktiver Immuntest, welcher RNA Proben zum Nachweis von Einzelstrang Ziel-DNA nutzt, um 18 verschiedene anogenitale HPV Typen zu identifizieren (Hall et al., 1996) [30].

Das zur Zeit einzige durch die FDA zugelassene HPV-Testverfahren ist der HC II (Digene Diagnostics, USA). Mit diesem HCA der 2. Generation können entweder 13 highrisk und/oder 5 lowrisk HPV-Typen in einer einzelnen Reaktion anhand eines semiautomatisierten Verfahrens nachgewiesen werden. Diese Methode wurde in der Studie von Wright et al. (1998) zur Beurteilung der HPV-Testung verwendet. CIN II/III konnten durch diesen Test mit einer Sensitivität von 90% nachgewiesen werden. Für die Spezifität konnte in derselben Studie ein Wert von 55% ermittelt werden [31].

Das Verfahren nach PCR besitzt die höchste Sensitivität. Diese Methode wurde ebenfalls in einer Vielzahl großer epidemiologischer Studien eingesetzt [25].

An welcher Stelle der Diagnostik nun die HPV-Testung am effizientesten ist, ist umstritten. Folgende Möglichkeiten stehen zur Verfügung:

- Als Primärscreening allein
- Als Primärscreening in Kombination mit dem Pap-Abstrich
- Als Reflextest bei unklaren zytologischen Befunden [27,31,32]
- Statt des Pap-Tests in der Nachsorge und Verlaufskontrolle von Dysplasien und Krebs

Als additives Screening zum Pap-Abstrich scheint die HPV-Testung mit einer Sensitivität von 91% für die Detektion von CIN III oder mehr (bei Frauen \geq 30 Jahren) am sinnvollsten zu sein. Im März 2003 wurde somit die Kombination des HC II-Tests komplementär zur Zytologie von der FDA als Primärscreening bei Frauen ab 30 Jahren zugelassen. Die Beachtung der Altersgrenze von 30 Jahren ist deshalb von Bedeutung, da die Prävalenz der

HPV-Infektionen in dieser Altersgruppe sinkt und eine Kombinationsmethode dadurch sensitiver ist. Die Sensitivität des HC II-Tests bei Frauen ≥ 30 Jahren lag alleine für die Erkennung von CIN III oder mehr bei 88,2% [27].

Der Reflextest wies in der Studie von Baseman et. al. die niedrigste Sensitivität auf (53,8% bei Frauen zwischen 30 und 50 Jahren), hatte jedoch eine beachtliche Spezifität von 95,1%, immer auf Frauen ≥ 30 Jahren bezogen. Zu beachten ist beim Reflextest zudem, dass er nicht das Problem der falsch negativen Zytologie beseitigt. Allerdings ist zu erwähnen, dass der Reflextest eine höhere Spezifität besitzt als der wiederholte zytologische Abstrich bei unklarem Zytologiebefund im Abstand von 3-6 Monaten [27].

Finanzielle Aspekte der oben genannten Untersuchungsverfahren seien an dieser Stelle unberücksichtigt.

Ergebnisse aus anderen Studien ergaben, dass bei Frauen mit vorausgegangener negativer Zytologie die Sensitivität des Zellabstrichs für CIN II/III durch den DNA-Nachweis von HPV signifikant erhöht werden konnten [33,34]. 44% der hochgradigen Dysplasien, die der Zytologie entgingen, konnten auf diese Weise identifiziert werden.

Der negativ prädiktive Wert eines HPV-Befundes ist deutlich höher als der des einmaligen zytologischen Abstrichs. Eine HPV-negativ getestete Frau ist demnach mit hoher Wahrscheinlichkeit wirklich gesund [5]. In der Konsequenz könnten dadurch die Kosten in der Frühdiagnostik zum einen durch längere Untersuchungsintervalle, zum anderen durch ersparte kolposkopische Untersuchungen und Biopsieentnahmen deutlich gesenkt werden.

1.2.4 Kolposkopie

Die Kolposkopie nimmt seit ihrer Einführung durch Hans Hinselmann in den 1920er Jahren wohl die wichtigste Stellung innerhalb der nicht-invasiven Methoden der Krebsfrüherkennung ein. Das Prinzip der Kolposkopie ist eine Lupenoptik, durch die die Oberflächenstruktur der Portio 6-40fach vergrößert erscheint. Veränderungen können so klinisch besser beurteilt und differentialdiagnostisch abgeklärt werden. Der medizinisch indizierte Einsatz der Kolposkopie ist vielseitig. Er reicht von der Abklärung auffälliger Pap-Tests bis zur Verlaufskontrolle bei bioptisch gesicherter CIN. Auch für die präoperative Therapieplanung ist die Kolposkopie aus medizinischer Sicht unablässig. Der große Vorteil der kolposkopischen Untersuchung liegt darin, dass gezielt Gewebeentnahmen gemacht werden können. Ein verwertbares kolposkopisches Ergebnis liegt dabei nur dann vor, wenn die Transformationszone einsehbar ist. Die erweiterte

Einleitung

Kolposkopie kann nach Applikation 3-5%iger Essigsäure oder nach Behandlung mit Lugol-Jod-Lösung (Schiller'sche Jodprobe) wertvolle Zusatzbefunde liefern.

Beurteilt werden folgende Kriterien: Farbe, Oberflächenbeschaffenheit, Gefäßmuster, Begrenzung, evt. Jodanfärbung und Essigfärbung. In den Abbildungen 6, 7 und 8 sind typische Kolposkopiebefunde verschiedener zervikaler Veränderungen zu sehen.

Die kolposkopischen Beurteilungskriterien lassen teilweise ein klinisches Grading der CIN-Stufen zu. Der Befund der Untersuchung wird nach der europäischen Kolposkopie-Nomenklatur (1989) erhoben (Tabelle 5).

Tabelle 5: Kolposkopie-Befundung [5]

| Kolposkopischer Befund | Graduierung | CIN |
|--|--|---|
| I. normale kolposkopische Befunde a) Originäres Plattenepithel b) Ektopie (Zylinderepithel) c) Normale Transformation | Grad 0 | |
| II. Abnorme kolposkopische Befunde a) Abnorme Transformation b) Feines Mosaik c) Feine Punktierung d) Feine Leukoplakie e) Erosion a) Abnorme Transformation b) Grobes Mosaik c) Grobe Punktierung d) Ausgeprägte Leukoplakie e) Irreguläre Gefäßzeichnung f) Ulkus | Grad 1 Grad 2 | HPV/CIN 0 oder CIN I CIN II/CIN III |
| III. Invasives Karzinom | | |
| IV. Andere kolposkopische Befunde Kondylom, Polyp, Entzündung (u.a.) | | |
| V. Ungenügende kolposkopische Beurteilung a) Plattenepithel-Zylinderepithelgrenze nicht einsehbar b) Schwere Entzündung oder Atrophie c) Portio nicht einstellbar | | |

Einleitung

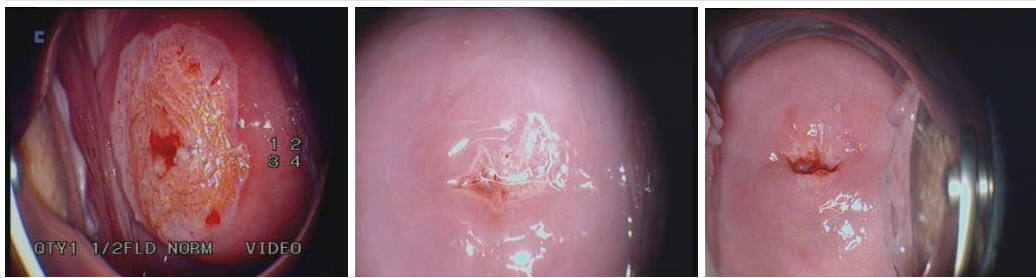


Abbildung 6: Unauffällige kolposkopische Darstellungen. Zervikale Ektopie (Bild links), unauffälliges Plattenepithel (Bilder Mitte und rechts)



Abbildung 7: Typischer Kolposkopiebefund nach Essigsäureapplikation einer CIN I, CIN II und CIN III (von links nach rechts)

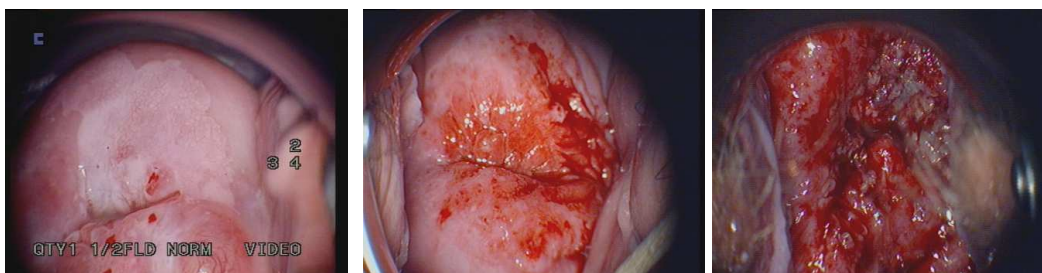


Abbildung 8: Abbildung einer CIN III (Bild links), eines CIS mit Übergang in ein Karzinom (Bild Mitte) und eines invasiven Plattenepithelkarzinoms (histologisch pT1a1) im Kolposkop (Bild rechts)

Für die Kolposkopie ergab sich in der Metaanalyse von Mitchell et. al. (1998) eine durchschnittliche Sensitivität von 96 % (wobei einige Studien eine Sensitivität von nur 79% ergaben). Die Spezifität betrug 48 % [35].

Die Kolposkopie ist als Screening nicht geeignet, weil die Anzahl falsch positiver Befunde hoch ist. Sie ist jedoch bei unklaren zytologischen Befunden für die weitere Abklärung von großem Wert, da kurz aufeinanderfolgende Zytologie-Abstriche oft zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Zu einer umfassenden kolposkopischen Untersuchung gehören gegebenenfalls gezielt entnommene multiple Knipsbiopsien, sowie die Endozervikalkürettage.

1.2.5 Histopathologie - Biopsien

Die gezielte Biopsieentnahme inklusive Endozervikalkürettage unter kolposkopischer Sicht stellt immer noch den Goldstandard in der Diagnostik des Zervixkarzinoms und seiner Vorstufen dar. Mit speziellen Biopsiezangen wird auffälliges Gewebematerial gewonnen und in Formalin vorerst fixiert. Die histopathologische Aufarbeitung besteht standardmäßig in der Anfärbung mit Hämatoxylin und Eosin (H.E.-Färbung) und der Beurteilung unter dem Lichtmikroskop. Die Klassifikation in verschiedene CIN-Grade erfolgt standardmäßig anhand der in Tabelle 1 angeführten Kriterien. In unauffälligen Gewebeproben gesunden mehrschichtigen Plattenepithels zeigt sich folgender Aufbau (Abb.9).

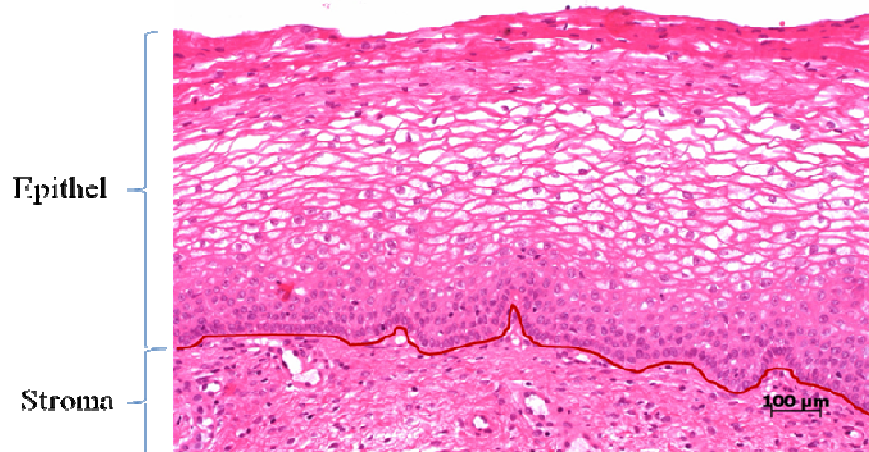


Abbildung 9: Plattenepithelaufbau der Cervix uteri, H.E.-Färbung, die Basalmembran ist im Bild rot markiert

Die histologische Diagnose ist letztlich in den allermeisten Fällen ausschlaggebend dafür, ob eine Therapie erfolgt bzw. welcher Therapieweg eingeschlagen wird. Dabei ist die Reproduzierbarkeit der histologischen Befunde für die Effektivität und Qualität der Methode von entscheidender Bedeutung. Vielerlei Faktoren beeinflussen das Ergebnis. Schwierigkeiten in der Beurteilung der Gewebeproben liegen in der Natur des pathophysiologischen Prozesses. Die Entwicklung der Krebsvorstufen kann als Kontinuum gesehen werden, wobei CIN I und CIN III klarer definiert sind als die mittelgradige Dysplasie, CIN II (Abb.10). Hier verschwimmen die Grenzen. Weitere Unklarheiten ergeben sich durch die Tatsache, dass benigne Veränderungen der Zervix, wie Atrophie und schwere Entzündungen, oft ähnliche Gewebsveränderungen zeigen wie Dysplasien und vom Pathologen isoliert schwer einzuordnen sind, bzw. falsche Ergebnisse generieren. Außerdem ist ein optimaler histologischer Schnitt und ein klares histopathologisches

Einleitung

Ergebnis oft nur dann möglich, wenn ausreichend Gewebsmaterial vorhanden ist. Biopsiefehler erschweren die Einordnung des Materials.

In einer multizentrischen Studie, der New Technologies in Cervical Cancer (NTCC), wurde die Reproduzierbarkeit histopathologischer Befunde geprüft. Die größte Unstimmigkeit zwischen zwei unabhängigen Untersuchern ergab sich in der Veröffentlichung von Dalla Palma et.al. an der Grenze zwischen normalem Befund und CIN I. Nur 30% der Ergebnisse bei negativem Befund stimmte bei beiden Untersuchern überein. Auch für CIN II ergaben sich große Unstimmigkeiten; hier lag die Übereinstimmung der Diagnosen beider Untersucher bei weniger als 50%. Wurden die Diagnosen in Gruppen zusammengefasst, konnten bessere Ergebnisse erzielt werden, wobei es sich in der Studie von Dalla Palma et.al. als Vorteil erwies, als Schwellenwert CIN II zu verwenden: CIN II oder mehr vs. weniger als CIN II. Die Unterscheidung zwischen CIN II und CIN III schien nämlich deutlich schwieriger als zwischen CIN I und CIN II [36].

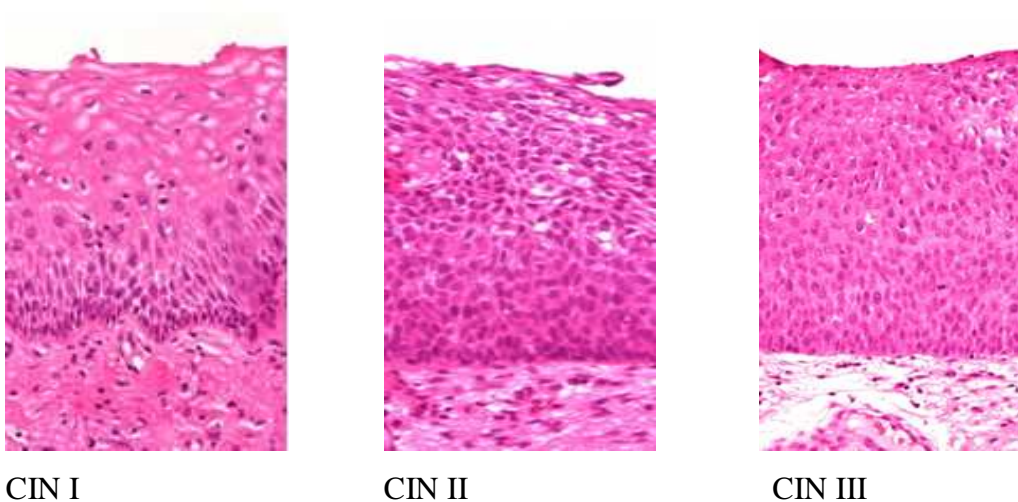


Abbildung 10: Histopathologische Epithelveränderungen in CIN I, CIN II und CIN III (H.E.-Färbung)

1.3 Optische Methoden zur Tumorfrüherkennung

1.3.1 Prinzipien optischer Darstellung

Ein großer Teil der Bestrebungen, die Probleme in der derzeit praktizierten Tumorfrühdagnostik zu beseitigen, vollzog sich in den letzten Jahren auf dem Sektor der Biophotonik [37-39]. Unter dem Begriff der Biophotonik versteht man alle Techniken, die die Wechselwirkungen zwischen Photonen und biologischem Gewebe in irgendeiner Form nutzen. Fortschritte in der biophotonischen Technologie haben es ermöglicht, optisch

diagnostische Systeme zu entwickeln, mit denen präkanzeröse Läsionen an der Zervix frühzeitig entdeckt werden können. Optische Systeme haben in der Tumorfrühdagnostik das Ziel, dem Untersucher unverzüglich genaue Information über die Morphologie des gesamten Epithels zu bieten. Sowohl im Screening als auch in der Diagnostik soll die Kosteneffektivität gesteigert werden, indem man unnötige Biopsien vermeidet und die Therapieverzögerung durch den Zeitverlust in der histologischen Aufarbeitung verhindert. Neue optische Systeme werden derzeit hinsichtlich dieses Potentials systematisch geprüft. Alle optischen Systeme basieren auf Interaktionen, die Licht mit lebendem Gewebe eingeht. Basis der neuen optischen Diagnostiksysteme für die Tumorfrüherkennung ist die Grundannahme, dass sich krankes Gewebe von gesundem hinsichtlich der Eigenschaften im Bezug auf die Interaktion mit Licht unterscheidet.

Dieses Prinzip nutzen verschiedene vielversprechende Diagnostikverfahren für die Cervix uteri, die sich derzeit alle im Erprobungsstadium befinden. Die Reflexionsspektroskopie und Fluoreszenz-Spektroskopie [38,39], die multispektrale Kolposkopie (MIS colposcopy) [37] und v.a. die (fluoreszierende) konfokale Endomikroskopie [40,41] stellen hochmoderne Konkurrenzverfahren zur OCT dar.

1.4 Optische Kohärenztomographie

1.4.1 Technisches Prinzip

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nicht invasives Bildgebungsverfahren, welches Tiefenschnittbilder erzeugt. Die Auflösung der OCT reicht an die histologische Aufarbeitung heran, dadurch kann die Mikrostruktur lebender Gewebe potentiell auf zellulärer und subzellulärer Ebene (2-10 μ m) dargestellt werden [39]. Deshalb kann die OCT in gewissem Sinne als optische (pseudohistologische) Biopsie bezeichnet werden [42].

Die OCT ist das optische Analogon zum B-Mode der Sonografie [43]: sie misst die Zeitverzögerung und den Intensitätsunterschied von reflektierten Wellen durch Gewebsstrukturen und errechnet daraus ein Schnittbild des Gewebes. Der Unterschied liegt vereinfacht gesagt lediglich darin, dass in der OCT Licht- anstelle von Schallwellen in definierter Phase verwendet werden. Bei der Sonografie führt die starke Extinktion der longitudinalen Druckwellen jedoch dazu, dass für Wellenlängen unterhalb von 100 μ m die Eindringtiefe ins Gewebe deutlich abnimmt und die Bildqualität entsprechend nachlässt. Die OCT setzt an dieser Stelle an und ermöglicht dort, wo der Einsatzbereich der

Einleitung

Sonografie aufhört, eine Auflösung im Mikrometerbereich [44]. Ein weiterer Vorteil gegenüber der Sonografie liegt in der besseren transversalen Auflösung. Diese wird nämlich durch die Möglichkeit, Wellen zu fokussieren, determiniert. Generell ist es leichter, Licht zu fokussieren als Schallwellen, was in der besseren transversalen Auflösung der OCT resultiert.

Verglichen mit etablierten tomographischen Bildgebungsverfahren ist die Auflösung der OCT etwa um mindestens zwei Größenordnungen besser als bei der Magnetresonanztomographie (MRT) und Computertomographie (CT) (0,5-1 mm) und etwa 10 bis 100 mal hochauflösender als der Standard-Ultraschall [45]. Der Hochfrequenzultraschall erreicht bisweilen eine Auflösung von 100-500 μm bei einer Eindringtiefe von wenigen Millimetern und ist somit um eine Zehnerpotenz schlechter als die neuesten hochauflösenden OCT-Geräte (2-4 μm , [46]).

Das Prinzip, nach dem die OCT arbeitet, ist die sogenannte Interferometrie. Diese Messmethode bedient sich des physikalischen Prinzips der Interferenz, der Überlagerung zweier oder mehrerer Wellen mit definierter Phasenbeziehung. Eine feste Phasenbeziehung bedeutet, dass der Unterschied zwischen den gleichzeitigen Schwingungszuständen zweier Schwingungen konstant bleibt. Dieses Prinzip der Korrelation zweier Lichtsignale durch Interferometrie ist in der OCT deshalb notwendig, da herkömmliche direkte elektronische Detektionssysteme (wie sie im Ultraschall Verwendung finden) nicht in der Lage sind, Laufzeitunterschiede in Lichtgeschwindigkeiten von 3×10^8 m/sec. zu erfassen [45].

Dieser Laufzeitunterschied der Lichtsignale in reflektierendem Gewebe wird mit Hilfe eines Michelson-Interferometers gemessen und verglichen. Ein sogenannter Referenzarm, ein Arm mit bekannter optischer Weglänge, wird im Time-Domain-OCT (TD-OCT) dazu benützt, die genaue Lokalisation des reflektierten Lichtstrahls zu ermitteln (Abb. 11).

Als Strahlenquelle dient eine Superlumineszenzdiode; in dieser wird niedrig kohärentes Licht (10 μm) im nahem Infrarotbereich (NIR, 1300 nm) generiert. Das Licht trifft auf einen Strahlungsteiler (ein Teil des Interferometers), der den Lichtstrahl in zwei Teilbündel spaltet. Ein Teil wird im Time-Domain-Modell (TD-Modell) auf einen Referenzspiegel in bekannter Entfernung zum Strahlteiler gerichtet, der andere Teil dringt in das Gewebe ein. Beide Teile werden reflektiert, der eine vom Referenzspiegel mit variabler aber bekannter Entfernung und der andere von Bestandteilen des Gewebes mit diversen Reflexionseigenschaften. Interferierende Lichtsignale werden vom Photodetektor aufgenommen und analysiert. Nur jene reflektierte Strahlung bzw. Photonen tragen

Einleitung

demnach zur Bildentstehung bei, die sich am Photodetektor (Interferometer) überlagern, also miteinander interferieren. Ein Schema dieses Prinzips ist in Abbildung 11 skizziert.

Damit sowohl die Entfernung des reflektierten Lichtsignals, als auch die Intensität mit einer Auflösung im Mikrometerbereich ermittelt werden können, ist es notwendig, dass das verwendete Licht niedrig kohärent ist, d.h. nur über einen sehr kleinen räumlichen und zeitlichen Bereich hinweg eine definierte Phasenbeziehung aufweist. Interferenz findet nämlich nur bei jenen reflektierten Lichtsignalen statt, die innerhalb derselben Kohärenzlänge erfolgen. Nur dann trägt sie zur Bildgebung bei [47]. Je kürzer also die Kohärenzlänge, desto genauer ist das entstehende Interferenzmuster und desto feinauflösender ist das Bild. Die Kohärenzlänge bestimmt somit in TD-OCT-Systemen die Tiefenauflösung des generierten Bildes.

Interferenz und Kohärenz sind also die physikalischen Säulen der optischen Kohärenztomographie.

Damit ein zweidimensionales Bild durch die OCT entsteht, muss in zwei Ebenen gescannt werden. Im TD-OCT geschieht dies, indem einmal ein Lichtstrahl in der optischen Sonde in lateraler Richtung zur Oberfläche bewegt wird (X-Achse, Lateralscan). Während dieser Lateralverschiebung wird simultan kontinuierlich der Tiefenscan (Z-Achse) durchgeführt, der wie oben beschrieben im TD-Modell durch mechanische Verschiebung des Referenzspiegels zustande kommt. Durch Kombination der simultan erhaltenen Informationen der 2 Ebenen wird eine zwei bzw. dreidimensionale Tomographie errechnet, die herstellerabhängig auf dem Bildschirm in logarithmischen Graustufen oder in intensitätsabhängigen Farbnuancen erscheint.

Der Messbereich, bzw. die Eindringtiefe des OCT-Systems in Geweben reduziert sich vor allem aufgrund der Lichtstreuung auf ca. 1,5 bis 2 mm, je nach Gewebsbeschaffenheit.

Somit ist dieses System in transparenten und streuenden Medien, wie menschlichen Schleimhäuten oder zervikalem Gewebe anwendbar. Am Zervixgewebe können epitheliale und subepitheliale Strukturen erfasst werden. Die OCT-Bilder geben Aufschluss über die Schichtdicke, die Art und Dichte der Strukturen innerhalb des Epithels und des Stromas. Außerdem lässt sich das histopathologische Erscheinungsbild erschließen: die horizontale Schichtung des Plattenepithels, bzw. die Schleimdrüsen des Zylinderepithels, indirekt die Basalmembran am Übergang zum Stroma mit der Lamina propria und den glandulären Zysten und Gefäßen.

Einleitung

Herkömmliche OCT-Geräte garantieren eine Auflösung von 10-15 μm , neueste high-resolution-Geräte erzielen bereits Auflösungen im Bereich zwischen 2 und 4 μm . Mittlerweile stehen Lichtquellen zur Verfügung, die Licht mit einer Kohärenzlänge von weniger als 1 μm erzeugen und somit potentiell ebendiese Auflösung ermöglichen [47].

Neben dem hier beschriebenen Time-Domain-Modell gibt es inzwischen neuere OCT-Systeme, wie das sogenannte Frequency-Domain-Modell (FD-Modell), das nicht mit mechanischer Veränderung des Referenzspiegels ein Interferenzmuster generiert, sondern durch rasche Änderung der Wellenlänge des ausgesendeten Lichts aus einer Laserquelle. Durch diese rasche Demodulation des optischen Spektrums erhalten diese Systeme die nötigen Informationen zur Bilderstellung. Durch eine inverse Fourier-Transformation kann der Tiefenscan errechnet werden. Die spektralen Informationen in der FD-OCT sind dabei entweder räumlich (wie im Spectral-Source-OCT oder Fourier-Domain-Modell) oder zeitlich (wie im Swept-Source-OCT) verschlüsselt [48]. Da die Änderungen der Lichtwellenlänge viel schneller erfolgen können als die mechanische Bewegung des Referenzarms im TD-Modell, werden schnellere Scanraten und somit 3D-Bilder in Echtzeit ermöglicht.

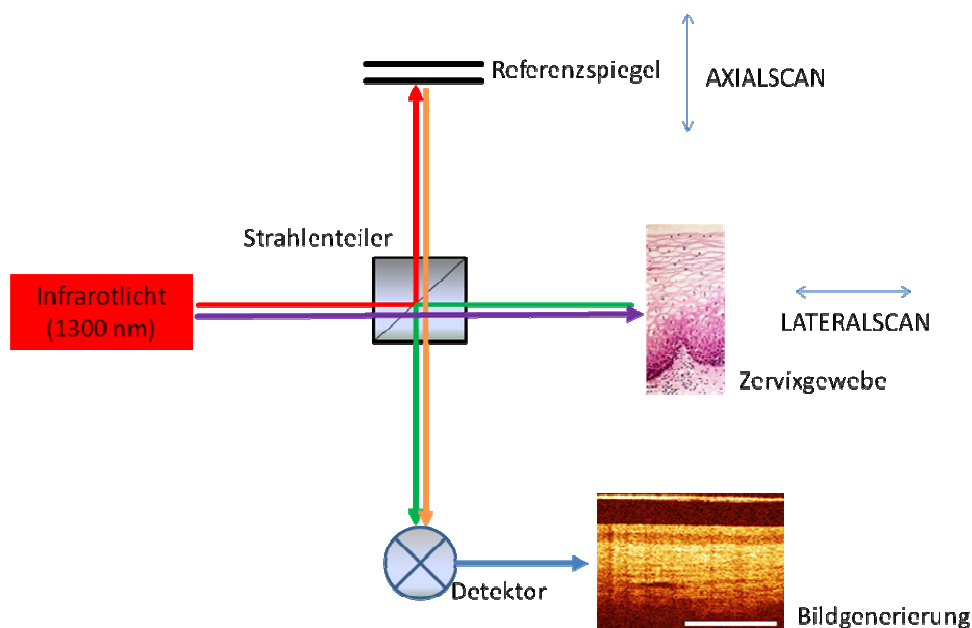


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips der optischen Kohärenztomographie

1.4.2 Historischer Abriss

Die Wurzeln des physikalischen Prinzips der optischen Kohärenztomographie reichen in die späten 80er Jahre zurück, wo das Verfahren ursprünglich dazu entwickelt wurde, Fehler und Defekte in Glasfaserkabeln und optoelektronischen Bauteilen zu detektieren

[49]. Der Grundstein für die Anwendung der optischen Kohärenztomographie im biomedizinischen Bereich wurde schließlich im Jahr 1991 gelegt [43]: Professor James Fujimoto erkannte damals am Massachusetts Institute of Technology (MIT) in den USA potentiell die Anwendungsmöglichkeit dieser neuen nicht invasiven optischen Diagnostik-Methode für die Medizin. Zunächst wurde dieses Prinzip in der Augenheilkunde zur Messung der Augenlänge angewandt [50]. In diesem transparenten Medium ist die optische Kohärenztomographie ohne Gewebekontakt besonders gut geeignet, nicht invasiv hochauflösende Darstellungen des vorderen Augensegments zu erstellen, insbesondere zur Erfassung von Schäden durch Glaukom, Makuladegeneration und Ödembildung [51-53]. Von den ersten in vivo Bildern der Sehnervenscheibe und der Makula, die 1993 entstanden [53,54], bis zum kommerziellen Einsatz der Technik in der ophthalmologischen Diagnostik im Jahre 1996 durch Humphrey Systems, Dublin, CA (jetzt im Besitz der Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Deutschland) [45] vergingen nur 3 Jahre. Heute ist die OCT in der Augenheilkunde ein etabliertes Diagnostikverfahren und nicht zuletzt durch die Tatsache, dass Biopsieentnahmen am Auge unmöglich sind, von besonderem klinischen Wert.

In der darauffolgenden Zeit machten es technische Verbesserungen möglich, das optische Prinzip mit geringerer Eindringtiefe aber dennoch nahezu histologischer Auflösung auch auf nicht transparente Medien anzuwenden. Dies lenkte die Aufmerksamkeit vieler klinischer Bereiche auf die neue nicht invasive optische Diagnostik. Dabei erlauben fast alle nicht transparenten Gewebe eine Eindringtiefe von 2-3 mm, was auch der konventionellen histologischen Aufarbeitung entspricht [45]. Nach zahlreichen in vitro Einsätzen der OCT im Bereich der Dermatologie, der Gastroenterologie, der Urologie, der Chirurgie und Neurochirurgie und auch der Rheumatologie [55-58] wurde die OCT in vivo zunächst vor allem in der Dermatologie zum Einsatz gebracht [59-62].

Über die ersten in vivo Anwendungen des OCT auf humane Schleimhaut berichteten Seergev et. al. im Jahre 1997 [63]. Seitdem wurde die OCT in Bereichen der Urologie, der Gastroenterologie, der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde und der Gynäkologie erforscht. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf onkologischen Epithelveränderungen [64].

In der Folge wurden medizinische Zusatzgeräte wie Katheter, Endoskope, Laparoskope und spezielle chirurgische Sonden dahingehend verändert, dass man die optische Sonde der OCT vielseitiger einsetzen konnte [63]. Damit konnte der Anwendungsbereich der OCT deutlich erweitert werden. Die OCT wurde nun wertvoll für invasive endoskopische Untersuchungen im Gastrointestinaltrakt [56,58,65], in der Lunge [66,67], in der HNO [68-

71] im Urogenitaltrakt [55,72,73], sowie für intravasale Bilder atherosklerotischer Plaques [74-76].

Auch die technischen Komponenten der optischen Kohärenztomographie haben sich seit ihren Anfängen vor knapp 20 Jahren weitgehend verbessert. Fortschritte haben dazu geführt, dass mittlerweile high-speed real-time OCT-Darstellungen mit einer Scanrate von mehreren Bildern pro Sekunde möglich sind [77]. Durch die Entwicklung neuer Laser-Lichtquellen können - wie oben erwähnt - Höchstauflösungen von 1 µm erreicht [47,52] und Bilder potentiell auf zellulärer Ebene dargestellt werden [78].

1.4.3 Anwendungsbereiche der OCT, Forschungsinteresse

Die Bildauflösung der zur Zeit verwendeten OCT-Geräte von 1 bis 15 µm ist ideal für den Nachweis kleinster morphologischer Veränderungen in der Frühphase der Tumorgenese. In diesem Sinne wird die OCT de facto in mehreren klinischen Sektoren zum Einsatz gebracht. Die wissenschaftlichen Publikationen und das Forschungsinteresse auf anderen Gebieten haben sich seit 2002 etwa verfünffacht. Den größten Einzelbereich im Hinblick auf die Forschung stellt dabei derzeit der kardiovaskuläre Sektor dar [79]. Hier wird die OCT v.a. endoskopisch zur Beurteilung von Stentergebnissen und zur Beurteilung von Plaques eingesetzt [74-76].

Der zweite große Einsatzbereich für die OCT ist die Onkologie, wo man sich durch die neue Technik einen wichtigen Fortschritt in der Tumorfrüherkennung, -diagnostik, sowie -therapie erhofft. Führend sind hierbei die Bereiche der onkologischen Dermatologie, Malignome des oberen Luft-Speisewegs, Blasenkarzinome, Tumoren des Gastrointestinaltrakts, sowie der Gebärmutterhalskrebs.

In Abbildung 12 ist die Forschungstätigkeit anhand der Veröffentlichungen in den verschiedenen Fachbereichen angegeben [79].

Einleitung

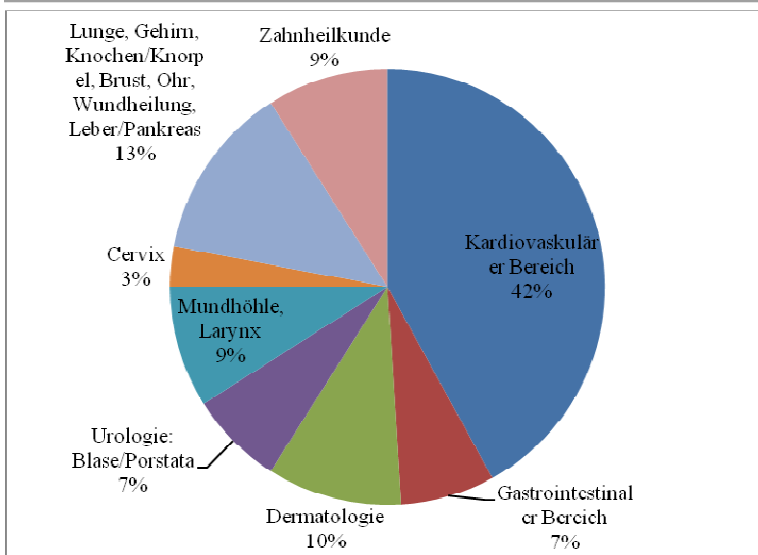


Abbildung 12: Überblick über die jüngste Verteilung der Veröffentlichungen wissenschaftlicher Arbeiten zur OCT in der Medizin, modifiziert nach Zahlen von www.biophotonics-journal.org; (2008), J. Holmes [79]

Es ist ein steigender Trend im Forschungsbemühen an dieser neuen nichtinvasiven Bildgebungsmethode zu erwarten. Dies hat nicht zuletzt das enorme Interesse an Konferenzen wie der Biomedical Optics (BiOS), der größten internationalen Konferenz für biomedizinische Optik, organisiert und gesponsert von SPIE (The Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers), mehr als deutlich gezeigt [80].

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Die Früherkennung des Zervixkarzinoms ist hinsichtlich der tumorassoziierten Morbidität und Mortalität ein entscheidender Aspekt in der Tumordiagnostik. Zu einem Großteil kann die Entstehung des invasiven Zervixkarzinoms durch die rechtzeitige Detektion und Behandlung präinvasiver Veränderungen der Zervix sogar verhindert werden. Den etablierten diagnostischen Verfahren entgehen derzeit immer wieder therapiebedürftige präkanzeröse Veränderungen. Das Miteinander der diversen zur Verfügung stehenden nicht invasiven diagnostischen Mittel wie Exfoliativzytologie, HPV-Diagnostik und Kolposkopie ermöglicht zwar ein umfassendes Bild und eine durchaus gute differentialdiagnostische Einschätzungsmöglichkeit der unterschiedlichen zervikalen Läsionen, dennoch bleibt der Goldstandard der Tumorfrüherkennung derzeit die invasive Gewebeentnahme mit einigen Nachteilen:

- Invasive oder frühinvasive Läsionen können zum Teil einer Biopsie entgehen, da sie bei der Inspektion makroskopisch unauffällig erscheinen oder nur schwer gegen nicht maligne Veränderungen abzugrenzen sind.

- Kolposkopie-geführte Biopsien bedürfen einer großen Erfahrung. Es kann zu Fehlbiopsien kommen, da Läsionen oft sehr klein sind. Es kann zudem Schwierigkeiten bereiten, aus einer großen Läsion das punctum maximum präinvasiven Wachstums zu ermitteln.
- Als invasive Technik ist die Methode zwar sehr sensitiv, aber durchaus kostspielig, (zeit)aufwendig und mit Risiken und Nebenwirkungen für die Patienten verbunden.
- Multiple Biopsieentnahmen sind empfohlen, um eine gewisse Sensitivität zu gewährleisten, was die Invasivität der Methode und ihre Nebenwirkungen erhöht. Unter bestimmten Umständen kann eine invasive Gewebeentnahme risikoreich oder gar unmöglich sein.

In Anbetracht des großen Nutzens einer Früherkennung prämaligener Läsionen und hinsichtlich der noch mangelhaften Screeningverfahren für maligne und prämaligene zervikale Veränderungen sind derzeit vielseitige Bemühungen im Gange, die Tumorfriherkennung zu verbessern. Es werden nicht invasive Techniken wie die OCT erforscht, die das Potential haben, präkanzeröse Läsionen mit hoher Sensitivität aufzudecken und unverzügliche Diagnosen zu liefern.

In diesem Sinne soll mit dieser prospektiven, klinisch experimentellen Studie geklärt werden,

- 1) ob sich durch die OCT dysplastische Veränderungen mit hoher Sensitivität in situ und in Echtzeit von gesundem Gewebe unterscheiden und sich zu anderen benignen Veränderungen der Zervix abgrenzen lassen.
- 2) welches bildmorphologische Korrelat pathologische Veränderungen in der OCT zeigen.
- 3) ob standardisierte und reproduzierbare OCT-Kriterien für die einzelnen Stadien der zervikalen intraepithelialen Neoplasien und des invasiven Karzinoms definiert werden können.
- 4) ob sich die OCT im Rahmen einer normalen Kolposkopieprechstunde sinnvoll durchführen lässt, auch unter Beleuchtung logistischer Aspekte.

2. Material und Methoden

Es handelt sich bei der vorliegenden Arbeit um eine unizentrische, prospektive klinische Studie. Das Projekt wurde durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Alle Teilnehmerinnen wurden über das Verfahren aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Die Auswertung der Bilder erfolgte anonym.

2.1 Patientenkollektiv

Die Studie fand im Rahmen der wöchentlichen Spezialsprechstunde für Dysplasien der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe (Campus Großhadern) der LMU München statt. Die Untersuchung mittels OCT war immer dann sinnvoll durchführbar, wenn der kolposkopische Befund Auffälligkeiten ergab und Biopsien ebendieser verdächtigen Areale zur histologischen Abklärung entnommen werden mussten. In diesen Fällen wurden die kohärenztomographischen Bilder von exakt denselben Läsionen jeweils vor der Knipsbiopsie gewonnen und in Echtzeit ausgewertet. Ziel war es letztendlich, die Ergebnisse der optischen Kohärenztomographie mit denen der Histopathologie hinsichtlich ihrer Übereinstimmung zu vergleichen.

Das Patientengut bestand hauptsächlich aus Frauen, die von externen Gynäkologen, in die Spezialsprechstunde für Dysplasien überwiesen wurden, um unklare kolposkopische Befunde abzuklären. Andere wiederum wurden aufgrund einer einmalig oder wiederholt auffälligen Exfoliativzytologie zur weiteren Diagnostik überwiesen. Teilweise wurden auch Patientinnen, die in der allgemeinen Dysplasiesprechstunde des Klinikums Großhadern zur Routine-Vorsorge vorstellig wurden, zum Ziel der genauen Abklärung in die Dysplasie-Spezialsprechstunde übernommen. Bei den restlichen Fällen handelte es sich um Verlaufskontrollen bereits bestehender histologisch gesicherter Läsionen oder um Kontrolluntersuchungen bei bereits stattgehabten dysplastischen Läsionen mit Spontanregression oder bei Rezidiven im Z.n. Konisation.

Es wurden also sowohl Patientinnen mit Primärläsionen als auch solche mit Sekundärläsionen in die Studie eingeschlossen. Unter Primärläsion versteht man alljene Läsionen, bei denen noch keine invasive Diagnostik wie etwa Knipsbiopsien erfolgt war. Sekundärläsionen sind hingegen Läsionen, die bereits entweder im Klinikum Großhadern selbst oder andernorts mittels Biopsien histologisch gesichert wurden. Auch

Rezidivläsionen wurden untersucht, sowohl solche nach Spontanremission, als auch Rezidivdysplasien nach Konisation. Schwangere Frauen mit dysplastischen Veränderungen wurden ebenfalls in die Studie mit eingeschlossen. Alle Teilnehmerinnen befanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung im prämenopausalen Zustand; dies war Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie.

Aus der Studie ausgeschlossen wurden minderjährige Patientinnen und Patientinnen mit eingeschränkter oder nicht gegebener Aufklärungs- und Einwilligungsfähigkeit.

2.2 Optische Kohärenztomographie – Time Domain Modell

Die Untersuchungen erfolgten mit einem Niris®Imaging System (Imalux Corporation, Cleveland, Ohio, USA, Abb.13). Das TD-OCT der Firma Imalux wurde 2004 durch die FDA und 2006 durch die CE zertifiziert.

Bei diesem Gerät wird eine Superlumineszenzdiode (SLD) als Lichtquelle verwendet. Diese generiert ein niedrig kohärentes, breitbandiges, nahes Infrarotlicht (NIR) mit einer zentralen Wellenlänge von 1300 nm. Das optische System befindet sich in einem 2 m langen flexiblen Schutzkabel und hat einen Gesamtdurchmesser von 2,7 mm. In diesem Kabel verlaufen alle notwendigen elektrischen Leitungen (Abb.14). Laut Herstellerangaben kann durch das Niris®Imaging-OCT eine laterale Auflösung von $\leq 50 \mu\text{m}$ und eine Tiefenauflösung von 10-20 μm erzielt werden. Die Eindringtiefe des Lichts beträgt je nach Beschaffenheit des untersuchten Gewebes bis zu 2 mm bei einer Darstellung mit 200x200 Pixel. Die Bildfrequenz ist mit 0,66 Hz angegeben, die Scanlänge jedes einzelnen Bildes beträgt 2 mm.

Die Messsonde wird in direkten Kontakt mit dem zu untersuchenden Gewebe gebracht, wobei sie für Untersuchungen an der Zervix in vorliegender Studie mit einer speziellen sterilen Plastikhülle umgeben wurde (Niris®Probe Sheath, Imalux Corporation, Cleveland, Ohio, USA, Abb.15).



Abbildung 13: Imalux Niris® TD-OCT-System, Bildschirm und Tastatur

2.3 Studiendurchführung

Im Zuge der wöchentlichen Spezialsprechstunde für Dysplasien wurden potentiell geeignete Teilnehmerinnen gesucht und für die Studie rekrutiert. Es wurde aufgrund anamnestischer Angaben und Vorbefunden eruiert, ob eine dysplastische Veränderung anzunehmen ist und ob die Patientinnen somit für die Studie in Frage kommen. In solchen Fällen wurden die Patientinnen im Voraus über das Untersuchungsverfahren aufgeklärt und willigten ein, dass im Falle einer nötigen Gewebeentnahme eine Zusatzdiagnostik mittels OCT durchgeführt wird und die Bilder anonymisiert und unter Einhaltung der Datenschutzvorschriften verwendet werden. Dabei wurde die Indikation zur Biopsie durch den Untersucher nach aktuellen Leitlinien und etablierten Kriterien gestellt, die Entscheidung zur Gewebeentnahme wurde nicht durch die Studie beeinflusst.

Für die Durchführung der kohärenztomographischen Untersuchung der Patientinnen waren drei Personen in der Sprechstunde anwesend: der untersuchende Gynäkologe, eine ausgebildete Krankenschwester und eine dritte Person zur Bedienung der Konsole der OCT (Abb.13).

Die Tatsache, dass bei der hier verwendeten Technik die Positionierung der Sonde und die gleichzeitige Bedienung der Konsole, bzw. die Beschriftung der Bilder, nicht durch eine Person möglich war, machte diesen personellen Aufwand notwendig.

Folgende Parameter und Befunde wurden im Rahmen der Studie erhoben:

- Exfoliativabstriche der Ekto- und Endozervix (PAP-Abstriche)
- HPV-Testung
- Kolposkopische Untersuchung mit digitaler Photodokumentation
- OCT-Aufnahmen der Zervix, systematisch und gezielt

- Knipsbiopsien, evt. Endozervikalkürettage

Bei allen Patientinnen erfolgte nach Inspektion des äußeren Genitale die Spiegeleinstellung auf dem gynäkologischen Stuhl. Mit trockenen Tupfern wurde das natürliche Vaginal- und Zervikalsekret entfernt um eventuelle abnorme Absonderungen zu entdecken und eine bessere Sicht auf die Zervix zu erhalten. Anschließend wurde bei allen Patientinnen Material für die zytologische Untersuchung gewonnen. Dazu wurden einmal mit Watteträgern Zellmaterial von der Ektozervix und getrennt durch ein Bürstchen Zellen aus dem Endozervikalkanal entnommen. Diese wurden jeweils dünn auf zwei verschiedenen Objektträgern ausgestrichen und sofort mit Fixierspray fixiert. Anschließend wurden diese zur exfoliativzytologischen Untersuchung in die Zytologie verschickt, wo sie nach Papanicolaou angefärbt und mikroskopisch beurteilt wurden. Die Ergebnisse folgten nach ca. einer Woche. Zusätzlich wurden bei fast allen Patientinnen Humane Papillomaviren der high-risk-Gruppe (hrHPV) bestimmt, außer bei denjenigen Frauen, bei denen eine solche Untersuchung weniger als 6 Monate zurücklag. In diesen Fällen wurde das Ergebnis als unverändert und aktuell angenommen.

An dieser Stelle erfolgte die Vorbereitung der kohärenztomographischen Untersuchung. Die Patientinnen wurden pseudonymisiert durch einen Verschlüsselungscode in den Rechner des OCT- Gerätes eingetragen und gespeichert. Anschließend wurde die sterilisierte optische Sonde an den Rechner angeschlossen. Für die Untersuchung wurde diese Sonde mit einer sterilen Plastikhülle umgeben. Es handelte sich hierbei um einzeln verpackte, sterile Einmal-Hüllen (Niris®Probe Sheath, Imalux Corporation, Cleveland, Ohio, USA) wie in Abbildung 14 und Abbildung 15 dargestellt. Dies war notwendig um einerseits Kontaminationen zu verhindern (die Schutzhülle stellt eine effektive Barriere für Mikroorganismen bis zu 25 nm Durchmesser dar), andererseits ermöglichte die Länge der Hülle und ihre physikalische Stabilität ein sichere Führung durch die Vagina und ein gezieltes senkrecht Aufsetzen der Sonde auf die Zervix (Abb.16 und 17).

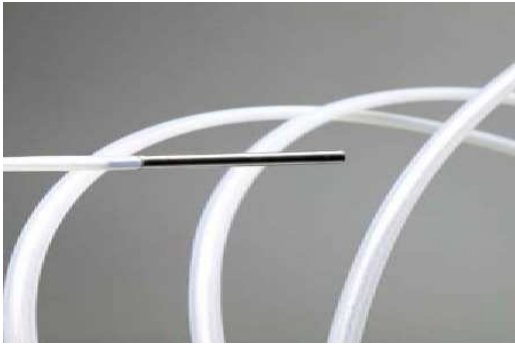


Abbildung 14 (links) und Abbildung 15 (rechts): optische Sonde des Niris® Imaging System (links), sterile Einmalhülle, Niris® Probe Sheath (rechts)

Unter kolposkopischer Sicht wurden zunächst bei fast allen Patientinnen Bilder der Ektozervix nach festgelegtem Schema in allen vier Quadranten innerhalb und außerhalb der Transformationszone gewonnen und gespeichert. Und zwar unabhängig davon, ob die Areale klinisch auffällig waren oder nicht. Anschließend erfolgte die Applikation von 3%iger Essigsäure für die Kolposkopie. Nach einer etwa dreiminütigen Einwirkzeit wurde die Portiooberfläche erneut nach kolposkopischen Kriterien beurteilt und der Befund photodokumentiert. Die Befundklassen waren „Normalbefund“, „reine Entzündung“, „andere benigne Veränderungen“, „CIN I“, „CIN II“, „CIN III“ und „invasives Karzinom“. Ein zweites Mal erfolgte die Erfassung aller Quadranten der Zervix durch die OCT nach vorgegebenem Schema. Zusätzlich wurden gezielt auffällige biopsiebedürftige Areale tomographiert. Alle auffälligen Bilder wurden in Echtzeit durch einen Untersucher, für den die Kolposkopie nicht einsichtig war, nach denselben 7 Befundklassen beurteilt und das Ergebnis schriftlich festgehalten. Anschließend erfolgten mit speziellen Zangen eine oder mehrere Knipsbiopsien genau dieser Läsionen, die kolposkopisch dysplasieverdächtig erschienen und kohärenztomographisch erfasst und vorläufig befundet wurden. Die Biopsate wurden in Formalinbehältern fixiert und für den Versand in die Histopathologie entsprechend vorbereitet. Die histopathologischen Ergebnisse folgten zeitgleich mit den zytologischen Befunden ca. nach einer Woche.

Die gesamte Untersuchung nahm etwa 5-10 Minuten in Anspruch. Alle durchgeführten Untersuchungen – ausgenommen die optische Kohärenztomographie - waren allgemein anerkannte Standardverfahren und wurden den Richtlinien entsprechend durchgeführt. Die neue nichtinvasive Technik der optischen Kohärenztomographie wurde zusätzlich angewendet, die Standard-Diagnostik wurde dadurch nicht beeinflusst. Ein unauffälliges

OCT-Bild beeinflusste nicht die klinisch-kolposkopische Entscheidung zur Notwendigkeit einer Gewebeentnahme. Es entstanden somit weder Nachteile und zusätzliche Belastungen, noch Zusatzrisiken für die Patientinnen. Eine spezielle Vorbereitung der Patientinnen war nicht erforderlich.

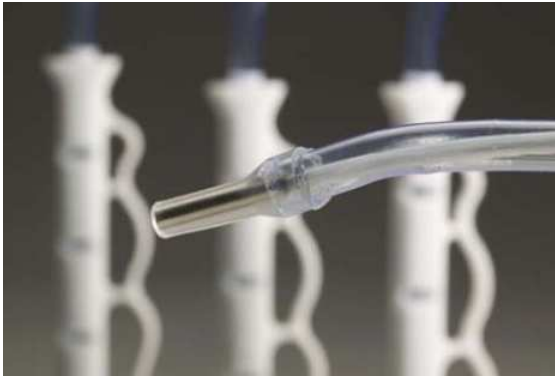


Abbildung 16: Optisches System umgeben von der Schutzhülle



Abbildung 17: Aufsetzen des Sonde auf die Portio mithilfe der sterilen Schutzhülle

2.4 Datenauswertung, Bildanalyse und Statistik

Anhand einer Skizze wurde die Lokalisation der tomographierten und biopsierten Areale festgehalten. Die OCT-Bilder wurden als TMG-Dateien abgespeichert und deren Echtzeit-Befundung auf einem Dokumentationsbogen notiert.

Die für die OCT-Auswertung führenden Kriterien waren die horizontale Schichtung des Gewebes, die Integrität der Basalmembran als klar definierte Grenze zwischen Epithelschicht und Stromagewebe, die Eindringtiefe des Lichts und letztlich die Signalintensität der Epithelschicht, wobei die von Escobar et. al. 2004 postulierten Kriterien zur OCT-Auswertung mit herangezogen wurden [42].

Anschließend wurde die kolposkopische Verdachtsdiagnose auf dem Dokumentationsbogen festgehalten. Sämtliche erhobenen Daten wurden nach Abschluss

Material und Methoden

aller Untersuchungen in eine Excel-Tabelle (Microsoft®Excel® 2002 SP3) übertragen und abgespeichert.

Die Ergebnisse der HPV-Testung, des PAP-Abstrichs sowie der histopathologischen Befunde der Biopsate folgten je eine Woche später, sodass die OCT Befundung in allen Fällen ohne Kenntnis dieser Ergebnisse erfolgte.

Nach jedem Untersuchungstag wurden alle Bilder auf einem eigenen Rechner mit PresTo2006 (PresTo, The Tomogram Presentator, 32-bit edition, version 2006.05.05, IAP RAS Nizhny Novgorod) geöffnet, formatiert und für jede Patientin getrennt abgespeichert. Die OCT-Bilder der Areale mit Biopsien wurden in eine PowerPoint-Datei (Microsoft®PowerPoint® 2002 SP3) mit jeweils einem gesunden Referenzbild der Patientin für die Übersicht übertragen. Eine Gynäkologin am Klinikum Großhadern wertete als Zweitbefunder alle Bilder verblindet aus.

Die Ergebnisse beider Untersucher wurden getrennt mit den histopathologischen Ergebnissen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität verglichen.

Für die statistische Auswertung von Sensitivität und Spezifität, bzw. von positiv und negativ prädiktivem Wert wurden unter Berücksichtigung der unten folgenden Tabelle 6 folgende Formeln verwendet:

Tabelle 6: Tabelle zur Errechnung von Sensitivität und Spezifität

| | Person ist krank (a+c) | Person ist gesund (b+d) |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Test positiv (a+b) | Richtig positiv (a) | Falsch positiv (b) |
| Test negativ (c+d) | Falsch negativ (c) | Richtig negativ (d) |

$$\text{Sensitivität (Richtig-Positiv-Rate)} = \frac{\text{richtig positive}}{\text{richtig positive} + \text{falsch negative}}$$

$$\text{Spezifität (Richtig-Negativ-Rate)} = \frac{\text{richtig negative}}{\text{richtig negative} + \text{falsch positive}}$$

$$\text{Positiv prädiktiver Wert} = \frac{\text{richtig positive}}{\text{richtig positive} + \text{falsch positive}}$$

$$\text{Negativ prädiktiver Wert} = \frac{\text{richtig negative}}{\text{richtig negative} + \text{falsch negative}}$$

Retrospektiv wurden zur Veranschaulichung der Signalintensität im vertikalen Verlauf der Bilder bei verschiedenen Diagnosen Intensitätsprofile mit ImageJ erstellt. Anhand dieser Profile sollten diverse optische Muster in normalen und pathologischen Befunden objektiviert und beschrieben werden.

3. Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

3.1.1 Analyse des Patientenkollektivs

Insgesamt konnten für die Studie über einen Zeitraum von 19 Monaten (Januar 2008 bis Februar 2010) 110 Patientinnen mit 195 unabhängigen Primär- und Sekundärläsionen rekrutiert werden. 4 der 110 Frauen wurden im Verlauf der Studie je zwei Mal zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt untersucht. Dabei handelte es sich in einem Fall um eine Patientin, die aufgrund einer erheblichen eitrigen Zervizitis zur Kontrolle nach Antibiotika-Therapie ein zweites Mal kohärenztomographisch und kolposkopisch (inklusive Biopsie) untersucht wurde. Zwei andere Patientinnen waren bei der ersten Untersuchung schwanger und wurden ein zweites Mal post partum untersucht. Die vierte dieser Patientinnen wurde zur Verlaufskontrolle bei gesicherter CIN I untersucht. In dieser Studie werden diese 4 Patientinnen statistisch als eigenständige Patientinnen ausgewertet. Zumal der HPV-Test und Pap-Abstrich zu beiden Zeitpunkten unabhängig bestimmt wurden und die Biopsieentnahme bei der Wiedervorstellung z.T. an anderen Stellen erfolgte.

4 Patientinnen (mit je einem Biopsat) mussten nachträglich aus der Studie ausgeschlossen werden, da die Läsionen in drei Fällen histologisch und in einem Fall kohärenztomographisch nicht auswertbar waren. Aus denselben Gründen mussten 2 weitere Läsionen (von 2 Patientinnen) nachträglich ausgeschlossen werden.

Dadurch ergibt sich ein tatsächliches Patientengut von 106 Patientinnen mit insgesamt 189 unabhängigen kohärenztomographischen und korrespondierenden histologischen Läsionen. 13 Patientinnen mit insgesamt 21 Biopsien waren zum Untersuchungszeitpunkt schwanger (8. SSW bis 35. SSW). 6 Patientinnen mit insgesamt 8 Biopsien befanden sich im Z.n. einmaliger oder mehrfacher Konisation. Das Durchschnittsalter aller teilnehmenden Frauen betrug 31,13 Jahre. Der Altersbereich reichte von 18 bis 49 Jahren. Alle Frauen befanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung im prämenopausalen Zustand. Die Altersverteilung der Teilnehmerinnen ist in Abbildung 18 dargestellt.

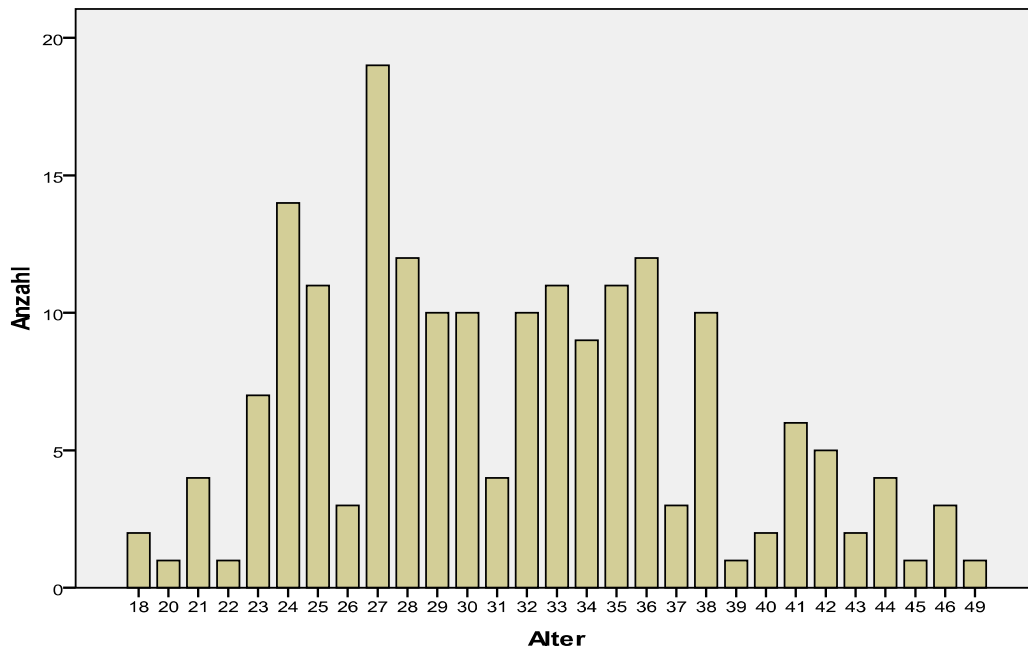


Abbildung 18: Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen

Bei allen Patientinnen wurde ein Pap-Abstrich gewonnen. Der Pap-Abstrich ergab in 17 Fällen Pap II, in 11 Fällen Pap IIW, in 4 Fällen Pap III, in 38 Fällen Pap IIID, in 30 Fällen Pap IVa, in 5 Fällen Pap IVb und in einem Fall Pap V.

Bei 81 Patientinnen lag ein HPV vom highrisk-Typ vor (76,4%). 23 Frauen waren HPV hr negativ. Bei 2 Patientinnen wurde das HPV nicht bestimmt.

In Tabelle 7 ist das Ergebnis des Pap-Abstrichs mit dem HPV-Ergebnis und den histologisch gesicherten CIN-Läsionen pro Patientin korreliert.

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen Pap-Abstrich und histologisch gesicherten Dysplasien

| | | Histologie | | | | | | |
|--------------------------|-----------------|----------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------|
| | | normal/ benigne | Entz. | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Ca | Total |
| Pap- Abstrich | Pap II | 3 | 8 | 2 | 2 | 2 | 0 | 17 |
| | Pap IIW | 1 | 4 | 1 | 5 | 0 | 0 | 11 |
| | Pap III | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| | Pap IIID | 5 | 5 | 14 | 7 | 7 | 0 | 38 |
| | Pap IVa | 3 | 1 | 1 | 3 | 21 | 1 | 30 |
| | Pap IVb | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 5 |
| | Pap V | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | total | 13 | 20 | 18 | 18 | 35 | 2 | 106 |

Insgesamt wurden bei den 106 in die Studie eingeschlossenen Patientinnen 1.236 OCT-Bilder gewonnen, was im Durchschnitt 11,7 Bildern pro Patientin entspricht. Es wurden sowohl Bilder vor Essigsäureapplikation, als auch Bilder nach Essigsäureapplikation gewonnen, je von ektozervikalen Stellen außerhalb und innerhalb der Transformationszone. Alle Biopsien erfolgten nach Applikation von 3%iger Essigsäure, wobei diese bildmorphologisch keinen relevanten Einfluss auf die kohärenztomographische Darstellung zeigte.

3.1.2 Analyse der biopsierten zervikalen Läsionen

196 Biopsien der Ektozervix wurden im Rahmen der Studie gewonnen, 189 konnten sowohl kohärenztomographisch als auch histologisch beurteilt und miteinander korreliert werden. Diese 189 Läsionen von 106 verschiedenen Patientinnen wurden statistisch ausgewertet. 7 der Biopsien wurden außerhalb der Transformationszone in primär originärem Plattenepithel entnommen, 169 wurden innerhalb der Transformationszone, 11 in der Übergangszone und 2 an der endozervikalen Grenze gewonnen.

Die histologischen Befunde ergaben für die gewerteten 189 biopsierten Areale folgende Diagnosen:

124 Läsionen waren Dysplasien. Darunter waren 30 CIN I, 30 CIN II und 64 CIN III. 9 Läsionen ergaben histologisch invasive Karzinome. 38 Läsionen waren benigne Veränderungen und Entzündungen und 18 Läsionen ergaben keinen pathologischen Befund.

3.2 Ergebnisse der Kolposkopie

Als derzeitig etablierter Bestandteil der Zervixkarzinom-Früherkennung wurde zunächst die Übereinstimmung der kolposkopischen Verdachtsdiagnosen mit den histopathologischen Diagnosen berechnet. Die Kolposkopie erreichte in der Studie eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 21 % in der Unterscheidung zwischen Dysplasie/Karzinom und allen anderen benignen oder normalen Befunden. Der positiv prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert der Kolposkopie lagen bei 75% und 92%.

Im Vergleich mit den histopathologischen Befunden erreichte die OCT eine exakte Diagnose in 90 der insgesamt 189 Fälle.

Die genauen Ergebnisse der Kolposkopie sind der unten folgenden Kreuztabelle zu entnehmen (Tabelle 8).

Ergebnisse

Tabelle 8: Ergebnisse der Kolposkopie im Vergleich zu den erhobenen histopathologischen Befunden

| | | Histologie | | | | | | |
|--------------------|----------------------------|----------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------|
| | | normal/ benigne | Entz. | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Ca | Total |
| Kolposkopie | normal/ benigne | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| | Entz. | 0 | 6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 7 |
| | CIN1 | 13 | 13 | 17 | 10 | 6 | 0 | 59 |
| | CIN2 | 3 | 6 | 5 | 6 | 10 | 0 | 30 |
| | CIN3 | 5 | 4 | 8 | 13 | 48 | 2 | 80 |
| | Ca | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 7 |
| | Total | 18 | 29 | 30 | 30 | 64 | 9 | 189 |

Zur Evaluierung der OCT als möglicher Bestandteil der Zervixkarzinom-Früherkennung alleine oder ergänzend zur Kolposkopie sollen im Folgenden die Ergebnisse der OCT mit denen der Kolposkopie dargestellt werden (Tabelle 9).

Tabelle 9: Kolposkopische Ergebnisse im Vergleich zu den gestellten OCT-Diagnosen

| | | OCT Untersucher 1 Untersucher 2 () | | | | | | |
|--------------------|---------------|--|--------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------|
| | | normal | Entz. | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Ca | total |
| Kolposkopie | normal | 5 (5) | 0 (0) | 1 (0) | 0 (1) | 0 (0) | 0 (0) | 6 |
| | Entz. | 0 (0) | 2 (3) | 1 (0) | 2 (2) | 2 (1) | 0 (1) | 7 |
| | CIN1 | 12 (13) | 1 (2) | 22 (19) | 15 (14) | 9 (9) | 0 (2) | 59 |
| | CIN2 | 2 (1) | 1 (1) | 7 (6) | 16 (12) | 14 (9) | 0 (1) | 30 |
| | CIN3 | 1 (2) | 1 (2) | 12 (12) | 21 (17) | 43 (46) | 2 (1) | 80 |
| | Ca | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (2) | 6 (5) | 7 |
| | Total | 20 (21) | 5 (8) | 43 (37) | 44 (46) | 69 (67) | 8 (10) | 189 |

3.3 Ergebnisse der OCT

3.3.1 Unterscheidung gesundes und prämalignes/malignes Zervixgewebe in der OCT

Insgesamt wurden durch die OCT in der Erstuntersuchung 164 Bilder anhand der oben beschriebenen optischen Kriterien als Dysplasien diagnostiziert (Tab. 10). 130 davon konnten histopathologisch bestätigt werden. 130 der 133 histologisch gesicherten prämaligenen und malignen Läsionen wurden also durch die OCT korrekt diagnostiziert. Enthalten sind hierin auch 9 invasive Karzinome, von denen 7 richtig durch die OCT identifiziert wurden. In 34 Fällen, in denen histologisch keine Dysplasie vorhanden war, ergaben die OCT-Untersuchungen eine CIN-Läsion. 21 dieser falsch positiven Befunde wiesen eine starke entzündliche Veränderung auf und bei weiteren 5 wurden benigne Veränderungen diagnostiziert.

Ergebnisse

22 der insgesamt 25 Läsionen ohne pathologischen Befund wurden durch die OCT korrekt als gesund erkannt. 3 der Bilder, die kohärenztomographisch keinen pathologischen Befund ergaben, waren durch die Pathologen als Dysplasie diagnostiziert worden.

Es ergaben sich folglich 130 richtig positive, 22 richtig negative, 34 falsch positive und 3 falsch negative Befunde.

Es konnte eine Sensitivität von knapp 98% und eine Spezifität von 39% für die Unterscheidung zwischen Dysplasien/Karzinom und normalen/benigen Befunden errechnet werden. Der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert ergab 79% und 88%.

Tabelle 10: Ergebnisse der OCT im Vergleich zur Histologie: Verblindete Erstbefundung in Echtzeit und verblindete Zweitbefundung () (Unterscheidung gesund/benigne versus Dysplasie/Karzinom)

| Histopathologie | OCT Erst- und Zweitbefundung | | | |
|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------|
| | | Normal/benigne Pathologien | CIN/Carcinom | GESAMT |
| | Normal/benigne Pathologien | 22 (23) | 34 (33) | 56 |
| | CIN/Carcinom | 3 (6) | 130 (127) | 133 |
| | GESAMT | 25 (29) | 164 (160) | 189 |

3.3.2 Unterscheidung anhand der Schichtung

Jede der 189 OCT-Aufnahmen wurde auf Vorhandensein und Integrität der horizontalen Schichtung überprüft. Die Bilder wurden zwei Kategorien zugeordnet: Bilder mit gänzlich oder z.T. erhaltener Schichtung und Bilder mit keinerlei Schichtung. Es sollte eruiert werden, ob dieses Kriterium der Schichtung optisch zur groben Unterscheidung zwischen mittel-/hochgradigen Dysplasien und Bildern ohne höhergradigen Befund (Normalbefund, benigne Befunde und CIN I) herangezogen werden kann. In 121 der OCT-Bilder war die Schichtung völlig aufgehoben, es bestand Verdacht auf eine hochgradige Dysplasie. In 83 dieser Fälle ergab der histopathologische Befund tatsächlich eine hochgradig prämaligene bzw. maligne Läsion (67%). In 68 Fällen war die Schichtungsstruktur noch vorhanden. Insgesamt 48 dieser 68 Bilder wiesen tatsächlich keine höhergradige prämaligene

Ergebnisse

Veränderung auf, das entspricht einer Sensitivität von 70%. Dabei zeigte sich, dass die Schichtung bei fast allen normalen Bildern, und bei ca. der Hälfte der benignen Veränderungen und der CIN I kohärenztomographisch vorhanden war. Die optische Schichtung in Bildern der CIN II und CIN III war in den meisten Fällen nicht mehr zu sehen. In allen Karzinom-Bildern war die Schichtung komplett aufgehoben, was auch dem histologischen Korrelat des Durchbruchs der Basalmembran entsprechen würde. In Tabelle 11 sind die genauen Ergebnisse dieser Untersuchung aufgelistet.

Tabelle 11: Tabellarische Übersicht der Läsionen im Bezug auf die Schichtung (nur Erstuntersucher)

| | Schichtung erhalten | keine Schichtung | GESAMT |
|------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------|
| Normalbefund | 14 | 4 | 18 |
| benigne Veränderungen | 5 | 4 | 9 |
| Entzündung | 15 | 14 | 29 |
| CIN I | 14 | 16 | 30 |
| CIN II | 7 | 23 | 30 |
| CIN III | 13 | 51 | 64 |
| Invasives Karzinom | 0 | 9 | 9 |
| GESAMT | 68 | 121 | 189 |

3.3.3 Auswertung nach zwei Klassen (Cut off CIN II bzw. CIN III)

Aufgrund der therapeutischen Konsequenz von mittel- und hochgradigen Dysplasien ergab sich die Fragestellung, inwieweit sich höhergradige Dysplasien und invasive Karzinome von Bildern mit Normalbefund oder leichten dysplastischen bzw. benignen Veränderungen verlässlich mittels OCT unterscheiden lassen. Das Ergebnis für den Cut off CIN II ist in Tabelle 12 angeführt.

Ergebnisse

Tabelle 12: Befundung durch Erst- und Zweituntersucher () in zwei Befundgruppen. Der Cut off ist CIN II

| Histopathologie | OCT Erst- und Zweitbefundung | | | |
|-----------------|------------------------------|----------------|------------------|------------|
| | | < CIN II | ≥ CIN II | GESAMT |
| | < CIN II | 54 (48) | 32 (38) | 86 |
| | ≥ CINII | 14 (18) | 89 (85) | 103 |
| | GESAMT | 68 (66) | 121 (123) | 189 |

Die Berechnungen für die Zuordnung in die zwei Klassen kleiner als CIN II versus größer/gleich CIN II ergab für die Echtzeitbefundung eine Sensitivität von 86% und eine Spezifität von 63%. Der PPW beträgt knapp 74%, der NPW 79%. Insgesamt gab es 89 richtig positive Befunde und 54 richtig negative durch die OCT. 32 Befunde waren falsch positiv, 14 falsch negativ.

Wird der Cut off bei CIN III gesetzt, ergeben sich jeweils für den Erstuntersucher eine Sensitivität von 73% und eine Spezifität von 79%. Der NPW für die Unterscheidung von Läsionen kleiner als CIN III und größer/gleich CIN III beträgt 82% und der PPW 69%. Insgesamt wurden 53 Läsionen richtig positiv und 92 Läsionen richtig negativ befundet, 24 waren falsch positiv und 20 falsch negativ (Tabelle 13).

Tabelle 13: Befundung durch Erst- und Zweituntersucher () in zwei Befundgruppen. Der Cut off ist CIN III

| Histopathologie | OCT Erst- und Zweitbefundung | | | |
|-----------------|------------------------------|------------------|----------------|------------|
| | | < CIN III | ≥ CIN III | GESAMT |
| | < CIN III | 92 (87) | 24 (29) | 116 |
| | ≥ CINIII | 20 (25) | 53 (48) | 73 |
| | GESAMT | 112 (112) | 77 (77) | 189 |

3.3.4 Genaue Auswertung in Befundklassen

Ob die OCT das Potential einer echten optischen Biopsie hat, wurde wie folgt eruiert. Es wurden in der OCT-Beurteilung dieselben Befundklassen wie die der Histopathologen verwendet. Die Fähigkeit der OCT, die untersuchten Läsionen anhand subjektiv optischen Kriterien den genauen Befundklassen der Pathologen „Normalbefund/benigne Pathologie“, CIN I, CIN II, CIN III und Karzinom zuzuordnen zu können, wurden in dieser Studie

Ergebnisse

überprüft. Folgende in unten stehender Tabelle 14 dargestellten Ergebnisse konnten in der Real-time-Befundung erzielt werden.

Tabelle 14: Kreuztabelle der genauen Real-Time-Befundung und der Zweitbefundung ()

| OCT Erst- und Zweitbefundung | | | | | | | | |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|---------------|------------|
| | | normal/ benigne | Entz. | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Ca | Total |
| Histologie | normal/ benigne | 13 (12) | 1 (1) | 5 (4) | 3 (3) | 4 (7) | 1 (0) | 27 |
| | Entz. | 4 (6) | 4 (4) | 7 (6) | 7 (5) | 7 (6) | 0 (2) | 29 |
| | CIN1 | 2 (0) | 0 (0) | 18 (15) | 4 (7) | 6 (6) | 0 (2) | 30 |
| | CIN2 | 0 (1) | 0 (1) | 5 (4) | 19 (18) | 6 (6) | 0 (0) | 30 |
| | CIN3 | 1 (2) | 0 (2) | 8 (8) | 11 (12) | 44 (39) | 0 (1) | 64 |
| | Ca | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (1) | 2 (3) | 7 (5) | 9 |
| | Total | 20 (21) | 5 (8) | 43 (37) | 44 (46) | 69 (67) | 8 (10) | 189 |

13 von 27 Normalbefunden und benignen Pathologien wurden richtig erkannt, 14 waren falsch positiv. Von den 29 reinen Entzündungen wurden 4 richtig erkannt, 4 wurden als gesund/benigne (falsch negativ) eingestuft und 21 wurden als Dysplasie verkannt (falsch positiv). Von den 9 benignen Veränderungen wurden ebenfalls 4 richtig als solche befundet, 5 waren falsch positiv. Von den 30 CIN I erkannte man mit Hilfe der OCT in der Erstbefundung 18 Läsionen korrekt, 2 waren falsch negativ und 10 überbewertet (falsch positiv). Von den 30 CIN II wurden 19 richtig erkannt, 5 wurden unterbewertet (falsch negativ) und 6 überbewertet (falsch positiv). Von den 64 CIN III-Läsionen war die OCT-Diagnose in 44 Fällen korrekt, 20 wurden zu gering eingestuft (falsch negativ). 7 der 9 Karzinome wurden erkannt, 2 Fälle waren mit einer CIN III diagnostiziert worden (2 falsch negative).

Insgesamt wurden 105 von 189 Läsionen (55%) mittels OCT exakt diagnostiziert. Es wurden 51 Läsionen durch die OCT überbewertet und 33 unterbewertet (bezogen auf die jeweilige Befundklasse). Bezogen auf den Cut off CIN I (siehe Tab. 10) gab es 22 richtig negative, 130 richtig positive Befunde und 34 falsch positive und 3 falsch negative Befunde.

3.3.5 Übereinstimmung der beiden Untersucher - Cohen's Kappa

Alle Bilder wurden wie oben beschrieben und im Detail angegeben zu einem späteren Zeitpunkt von einem verblindeten geübten Zweitbefunder beurteilt. Somit wurden die klinischen Einflüsse des Erstbeurteilers umgangen und die diagnostische Qualität des neuen optischen Verfahrens besser beurteilt. Die Ergebnisse der Zweitbefundung sind in den oben angeführten Tabellen jeweils in Klammern neben der Erstbefundung angeführt. Der Zweitbefunder erreichte in der Unterscheidung zwischen normalen/benigne veränderten Bildern und dysplastischen/malignen Bildern (sprich Cut off CIN I) eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 41%. Der positiv prädiktive Wert und der negativ prädiktive Wert betragen jeweils 79%.

Die Ergebnisse der Zweitbefundung in 2 Befundklassen lagen bei knapp 83% Sensitivität und 56% Spezifität (PPW 69% und NPW 73%) für den Cut off bei CIN II. Die Werte für den Cut off CIN III betragen jeweils 66% Sensitivität und 75% Spezifität und 62% PPW und 78% NPW.

In der Einteilung in die genauen Befundklassen „Normalbefund/benigner Befund“, „Entzündung“, CIN I, CIN II, CIN III, „invasives Karzinom“ diagnostizierte der Zweitbeurteiler 93 von 189 Läsionen exakt (49%). Es wurden 12 von 27 Normalbefunden und benignen Pathologien korrekt erkannt, 4 von 29 Entzündungen, 15 von 30 CIN I, 18 von 30 CIN II, 39 von 64 CIN III, 5 von 9 Karzinomen. In 56 Fällen lag eine Überbewertung vor und in 40 Fällen eine Unterbewertung des jeweiligen Befundes.

Für die Übereinstimmung zwischen den beiden Beurteilern errechnet sich wie in Tabelle 15 dargestellt ein ungewichtetes Cohen's Kappa von $\kappa=0,7$ (0,95 CI 0,5455-0,8501) für die Unterscheidung zwischen Dysplasien/Karzinomen und allen normalen und benignen Befunden. In der Zuordnung in die 2 Befundklassen ($<CIN II$ und $\geq CIN II$ bzw $<CIN III$ und $\geq CIN III$) ergab sich ein Kappa-Wert von $\kappa=0,6$ für den Cut off CIN II (0,95 CI 0,48-0,73) und $\kappa=0,63$ für den Cut off CIN III (0,95 CI 0,51-0,74).

Ergebnisse

Tabelle 15: Übereinstimmung Erstbefundung und Zweitbefundung, Cohen's Kappa bezogen auf die verschiedenen Auswertungen

| | | Unters.2 | | | | | | |
|--------------|--------|-------------------|-------|------|------|------|----|-------|
| | | Histologie | | | | | | |
| | | normal | Entz. | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Ca | Total |
| Unters. 1 | normal | 16 | | 3 | 1 | | | 20 |
| | Entz. | 1 | 3 | 1 | | | | 5 |
| | CIN1 | 2 | | 24 | 12 | 5 | | 43 |
| | CIN2 | 1 | 3 | 9 | 19 | 12 | | 44 |
| | CIN3 | 2 | 1 | | 13 | 48 | 5 | 69 |
| | Ca | | | | 1 | 2 | 5 | 8 |
| | total | 22 | 7 | 37 | 46 | 67 | 10 | 189 |

Zusammenfassend ergibt sich für die die OCT in dieser Studie in der klinisch relevanten Unterscheidung zwischen prämaligen Dysplasien/Karzinomen und normalen/benigen Befunden eine aus den beiden Untersuchern gemittelte Sensitivität von 96,5% und eine gemittelte Spezifität von 40%. Die Experten-Kolposkopie ergab in dieser Studie eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 21%.

3.4 Bildmorphologie

3.4.1 Plattenepithel der Ektozervix, inter- und intraindividuelle Variabilität

Durch die optische Kohärenztomographie konnten in dieser Studie mikroanatomische Strukturen des lebenden zervikalen Gewebes identifiziert und mit den histologischen Schnitten korreliert werden. Es konnte in der OCT die gesamte Epithelschicht und ein Teil des Stromas mit den jeweiligen Charakteristika dargestellt werden.

Auf einen signalreichen Reflexstreifen am oberen Bildrand folgte ein schwarz erscheinender optischer Vorlauf als Artefakt der sterilen Hülle und der Sondenbeschaffenheit. Das eigentliche Epithel zeigte sich mit einer relativ hohen Signalintensität. Es stellte sich optisch meist zweischichtig dar, wobei grundsätzlich die Signalstärke des Epithels zur Basalmembran hin abfiel. Auf eine relativ signalreiche Schicht an der Oberfläche folgte eine signalärmere, an das Stroma grenzende Schicht. Das

Ergebnisse

histologische Korrelat dazu sind die Superficialzellschicht (mit relativ locker liegenden Zellen und zyklusabhängigen Glykogeneinlagerungen) und die Intermediärzellschicht, die die Lichtsignale üblicherweise etwas schwächer reflektiert und im OCT-Bild somit dunkler erscheinen lässt. In den OCT-Bildern von gesundem Gewebe ließ sich das Epithel klar vom Stroma abgrenzen, wodurch insgesamt eine optische Dreischichtung entstand. Der Übergang des Epithels zum Stroma imponierte durch eine schlagartige Zunahme der Signalintensität, was einerseits durch die dicht stehenden Basalzellen an der Basalmembran, andererseits durch andere stark streuende Strukturen, wie Bindegewebsfasern des Stromas zu erklären ist. An dieser Grenze liegt die Basalmembran, die sich der direkten visuellen Darstellung durch die OCT entzieht und sich indirekt als scharfe Grenze zwischen Epithel und Stroma darstellt.

Im Stroma war charakteristischerweise eine horizontale Streifung als Korrelat der lamellär liegenden Kollagenfasern kohärenztomographisch zu sehen. Auch im Stroma liegende Gefäße konnten zur Darstellung gebracht werden. Die Abnahme des Lichtsignals im Verlauf des Stromas ist bedingt durch die kontinuierliche Abschwächung des OCT-Signals über die Distanz und die limitierte Eindringtiefe des nahen Infrarotlichts in streuendem Gewebe. Die Abbildungen 19 und 20 zeigen die Korrelation zwischen einem OCT-Bild und dem entsprechenden H.E.-Schnitt der Histopathologie von unauffälligem primär originärem Plattenepithel der Ektozervix.

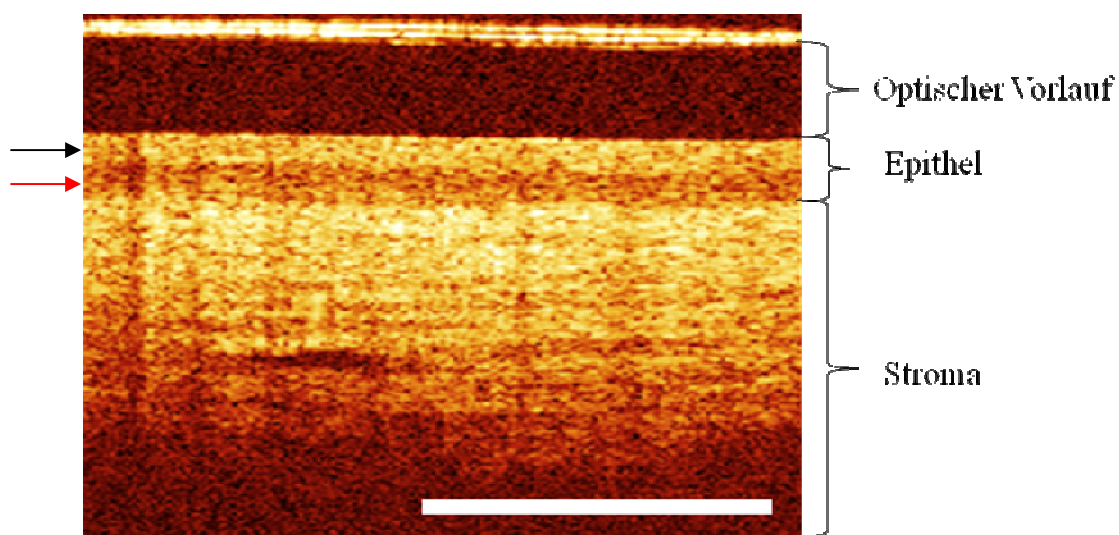


Abbildung 19: In vivo TD-OCT von gesundem zervikalen Gewebe: optische Dreischichtung. Die Basalmembran stellt sich indirekt als scharfe Grenzlinie zwischen Epithel und Stroma dar. Die Pfeile zeigen die zwei Schichten innerhalb des Epithels (Superficialschicht und Intermediärschicht). Die lamelläre Streifung des Stromas mit einem Gefäßeinschluss ist zu sehen. Der weiße Balken im Bild entspricht 1 mm.

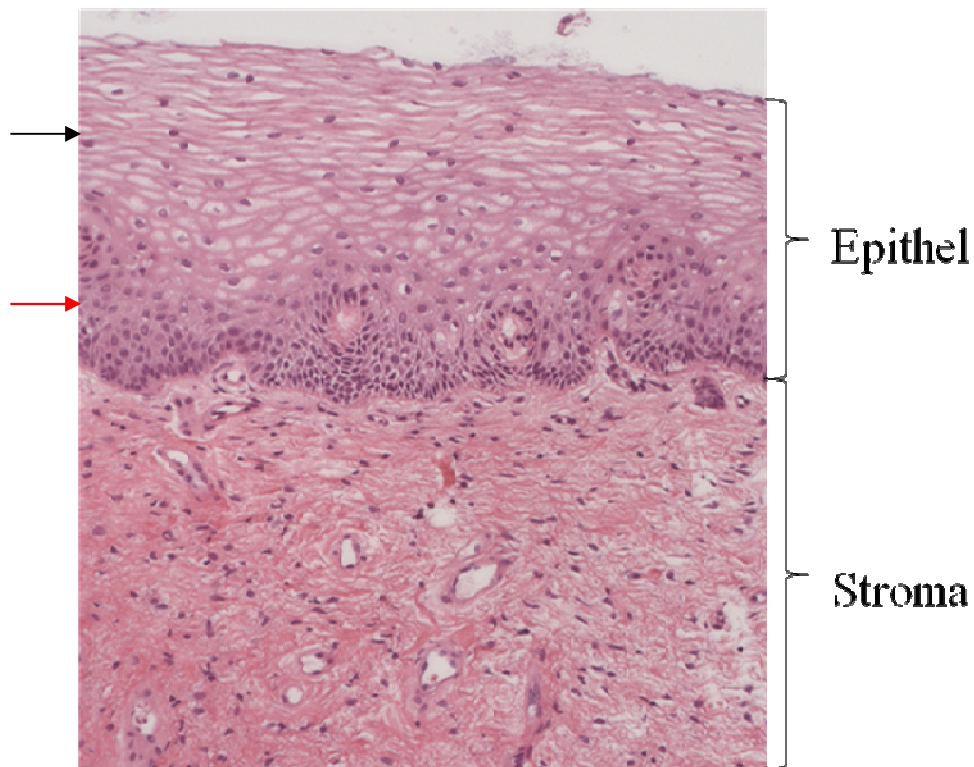


Abbildung 20: Histologisches Korrelat (H.E.-Färbung) zum OCT Bild in Abb.19: gesundes zervikales Plattenepithel (100fache Vergrößerung)

Signalintensität und Dicke des Epithels variierten individuell sehr stark u.a. in Abhängigkeit vom Alter der Frau und vom Zyklus. Auch innerhalb eines Individuums zeigten sich für verschiedene Stellen der Ektozervix z.T. große Dickenvarianzen.

Die folgenden Bildbeispiele unauffälligen Plattenepithels der Portio uteri sollen repräsentativ diese inter- (Abb.21) und intraindividuellen (Abb.22) Unterschiede der Epithelschicht verdeutlichen.

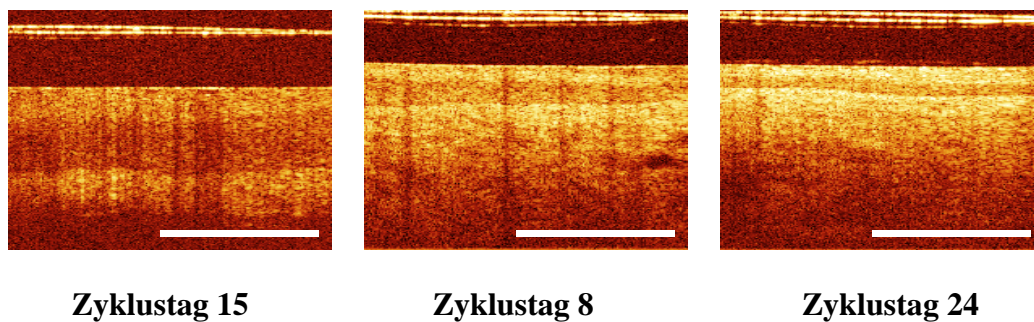


Abbildung 21: Bilder verschiedener Patientinnen, jeweils primär originäres Plattenepithel der Ektozervix bei 3 Uhr in SSL: interindividuelle Dicken- und Signalintensitätsvarianzen (u.a. im Einfluss des hormonellen Zyklus, angegeben in Tagen nach dem ersten Tag der letzten Periode)

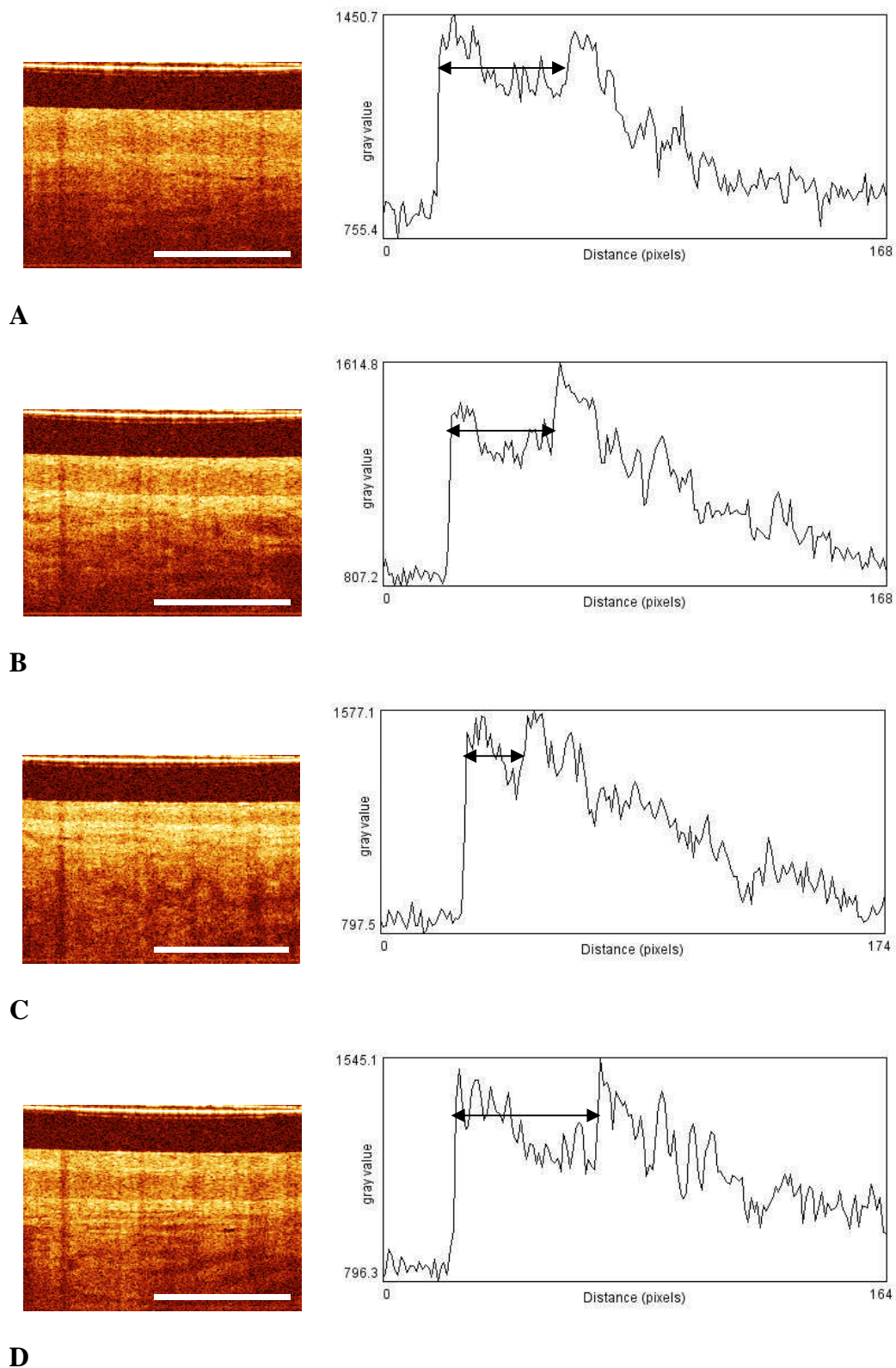


Abbildung 22: Intraindividuelle Variabilität der Schichtdicke und der Signalintensität anhand OCT-Bildern und deren Profilen aus den vier Quadranten einer Patientin: 12 Uhr (A), 3 Uhr (B), 6 Uhr (C), 9 Uhr (D). Die schwarzen Pfeile geben das Dickenmaß des Epithels an.

3.4.2 Zylinderepithel der Ektozervix und Endozervix in der OCT

Was das Zylinderepithel der Zervix in der kohärenztomographischen Darstellung betrifft, ist festzustellen, dass sich - wie auch histologisch bestätigt - keine klare Schichtung zeigt. Vielmehr ist das Bild dominiert von Drüsengewebe, was eine Beurteilung hinsichtlich dysplastischer Veränderungen nicht zulässt (Abb. 23).

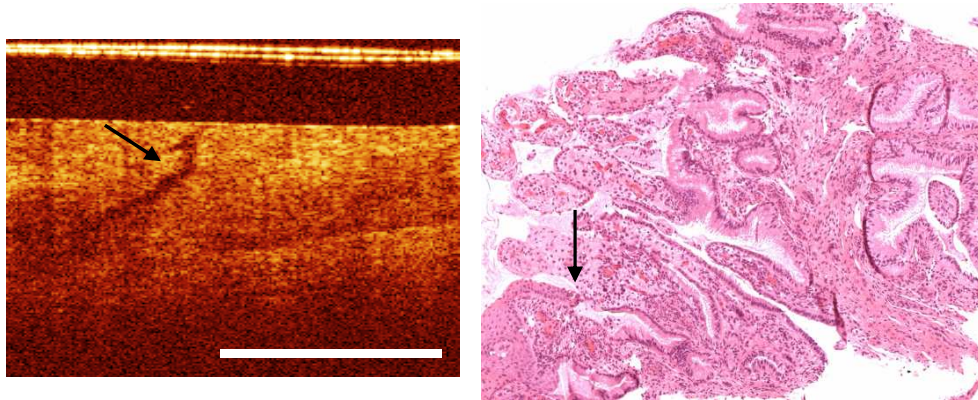


Abbildung 23: Das Bild links zeigt die OCT-Darstellung am Übergang von Plattenepithel (rechts im Bild) zum Zylinderepithel (links im Bild) bei einer Patientin mit Ektopie; der Pfeil zeigt eine Drüse. Das Bild rechts zeigt das histologische Korrelat des Übergangs, der mit Pfeil markiert ist.

Auch am Übergang zum Zervikalkanal ist die Architektur des Gewebes histologisch anders als die des Plattenepithels der Ektozervix und somit mittels OCT anhand unserer Kriterien für ektozervikales Plattenepithel nicht zu beurteilen. Abbildung 24 und Abbildung 25 zeigen beispielhaft die OCT-Darstellung von Gewebe am endozervikalen Übergang.

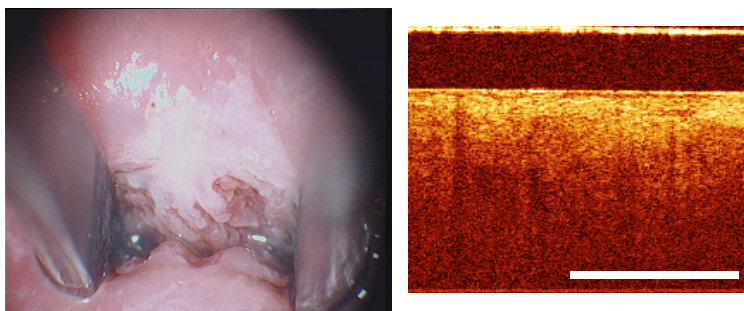


Abbildung 24: OCT-Bild am endozervikalen Übergang

Ergebnisse

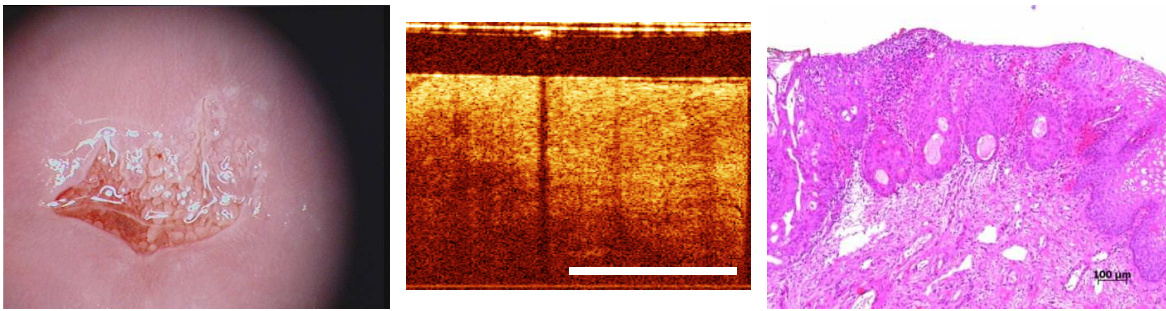


Abbildung 25: links: Kolposkopisches Bild. Die PE erfolgte bei 1 Uhr an der Grenze zum Zervikalkanal. Mitte: OCT-Bild des ekto-endozervikalen Übergangs: Die geschichtete Struktur der rechten Bildhälfte bricht in der linken Bildhälfte ab. Rechts: Histologisches Korrelat der Übergangszone (mit ausgeprägter Plattenepithelmetaplasie und -hyperplasie).

Das endozervikale Epithel in der Nähe der Transformationszone ist ein einschichtiges schleimbildendes Epithel mit zahlreichen longitudinalen Falten und Invaginationen. Dies führt zu einer unstrukturierten OCT-Darstellung, wodurch es nicht nach klassischen Kriterien des primär und sekundär originären Plattenepithels der Ektozervix und Transformationszone beurteilt werden kann.

Fazit der Untersuchung ist, dass sich die OCT nur in der Transformationszone der Ektozervix, der Prädilektionsstelle für zervikale intraepitheliale Neoplasien, sinnvoll durchführen lässt. Hier ist unter physiologischen Bedingungen der Übergang von Zylinderepithel in sekundär originäres Plattenepithel in der OCT durch eine klare Schichtung - ähnlich wie in primär originärem Plattenepithel außerhalb der Transformationszone - zu erkennen (Abb.26). Eine klare Dreischichtung in Arealen der Transformationszone spricht somit gegen ein dysplastisches Geschehen. Befindet sich in dieser Transformationszone eine CIN, so ist die Schichtung in der OCT gänzlich oder teilweise aufgehoben, wie es in Abbildung 27 anhand eines kolposkopisch sichtbaren Übergangsbereichs zwischen gesundem und dysplastischem Epithel deutlich gezeigt wird. Wie im folgenden Kapitel erklärt, zeigen sich je nach Grad der Dysplasie in der OCT bestimmte optische Muster. Tomographiert man Areale, die von einschichtigem Zylinderepithel bedeckt sind, zeigt sich keine Schichtung, es zeigt sich vielmehr in Korrelation zur Histologie ein Bild mit schleimbildenden Drüsen. Je näher man an den Endozervikalkanal und zum einschichtigen Zylinderepithel kommt, desto eher besteht die Gefahr, dass durch die OCT ein falsch positiver Befund entsteht, da in diesen Bereichen selbst unter physiologischen Bedingungen keine horizontale Schichtung in der OCT zu erkennen ist.

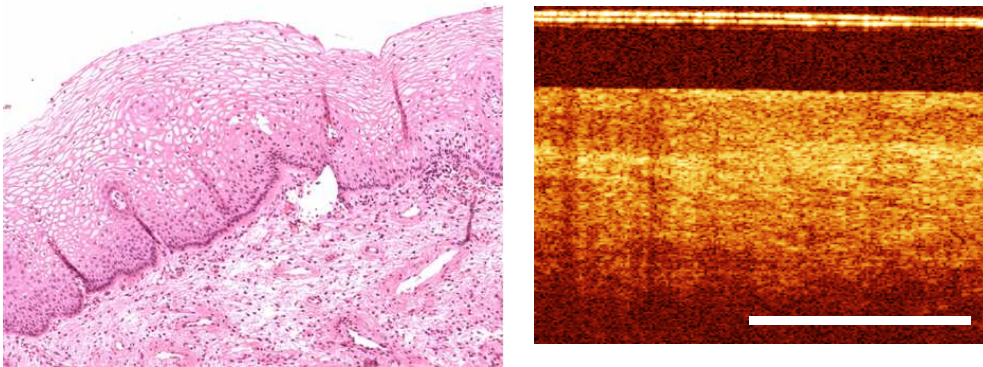


Abbildung 26: Plattenepithel der Transformationszone in der Histologie (links) und OCT (rechts): klare Schichtung.

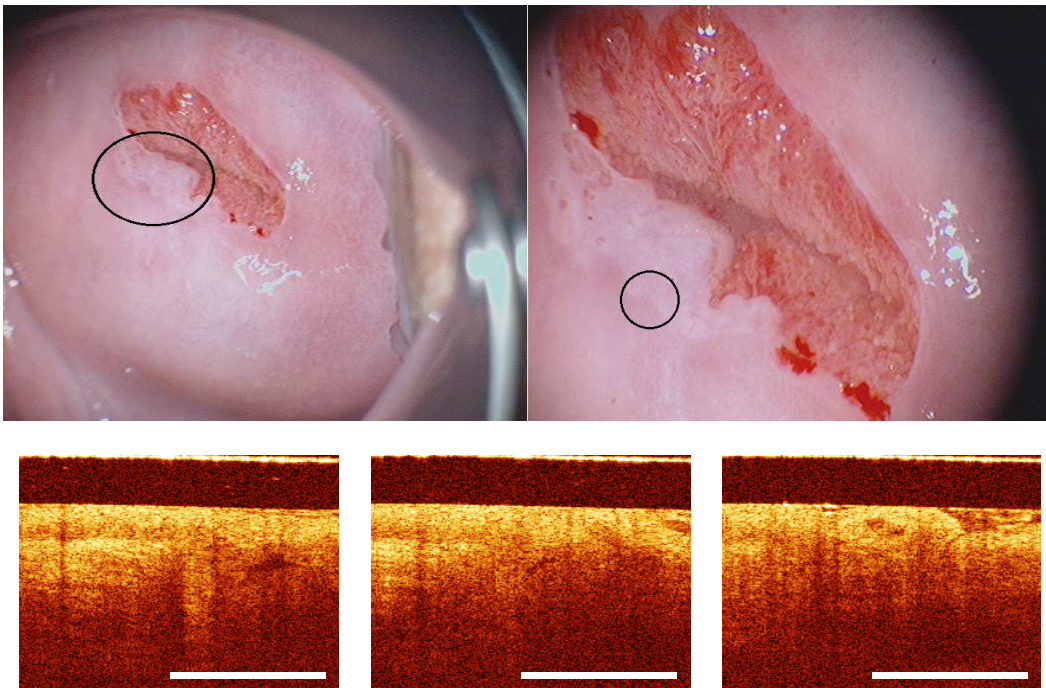


Abbildung 27: Durch Versetzen der Sonde am kolposkopisch sichtbaren Rand einer Läsion nach Essigsäureapplikation (Bilder oben) zeigt sich in der OCT exakt der Übergang von gesundem Epithel mit klarer optischer Schichtung zu dysplastischem Areal ohne Schichtung (Bilder unten).

3.4.3 Zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) und Karzinome in der OCT und Histologie

Dysplastische Läsionen haben sich in den Bildern der optischen Kohärenztomographie erheblich von den oben beschriebenen Bildern gesunden Gewebes unterschieden. Dabei wiesen Dysplasien in der OCT je nach Grad der dysplastischen Veränderung einige charakteristische optische Merkmale auf.

CIN I

Läsionen mit geringgradiger Dysplasie (CIN I) zeigten im OCT-Bild z.T. eine noch vorhandene Schichtung (n=14 von 30), in einigen Fällen war diese optisch nicht mehr zu sehen (n=16 von 30). Die Grenze zum Stroma war in den meisten Fällen im Vergleich zu Bildern gesunden Gewebes verschwommen. In diesen Fällen orientierten wir uns an der Eindringtiefe des Lichts. Das Licht konnte in den meisten CIN I-Läsionen noch relativ tief eindringen. Somit kamen auch tiefer gelegene Strukturen meist noch zur Darstellung. Ein Erklärungsansatz ist der, dass aufgrund der relativ geringen dysplastischen Veränderung die Streuungseigenschaften im Epithel nicht wesentlich verändert sind (Abb. 28).

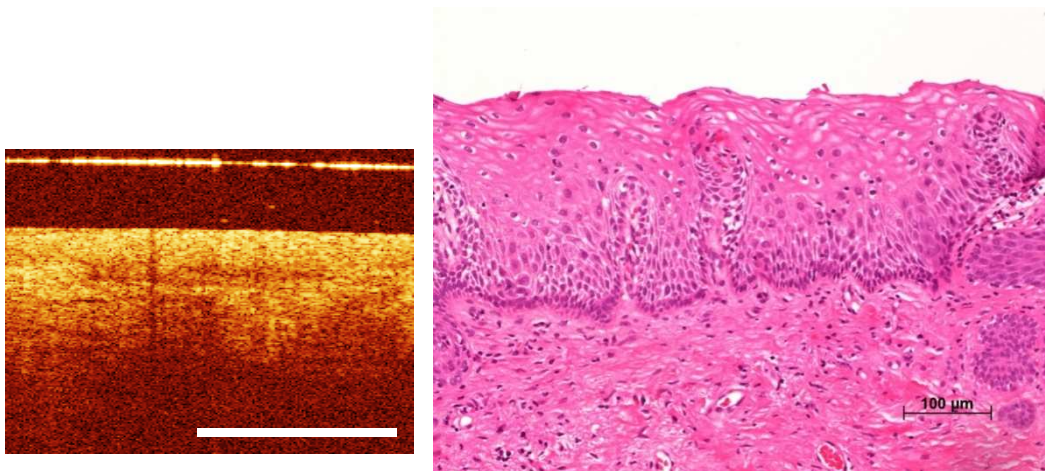


Abbildung 28: Bilder einer CIN I. Die Schichtung ist im kohärenztomographischen Bild (links) zu erahnen, wenn auch unscharf; die Lichtsignale werden auch aus tieferen Schichten noch reflektiert. Im histologischen Korrelat ist die Epithel-Stroma-Grenze intakt, die basalmembrannahen Zellen im unteren Epitheldrittel sind dysplastisch verändert.

CIN II

Mäßiggradige Dysplasien (CIN II) zeigten in den meisten Fällen (n=23 von 30) eine völlige Aufhebung der optischen Schichtung. Optisch dominierte der Eindruck, dass dunkle Säulen entstehen, die nicht ganz an die Oberfläche reichen. Eine klare Abgrenzung

Ergebnisse

zu OCT-Bildern von hochgradigen Dysplasien CINIII war nur schwer möglich (siehe unten). Im histologischen Korrelat der CIN II ist die Epithel-Stroma-Struktur intakt, die unteren zwei Drittel des Epithels sind dysplastisch verändert (Abb. 29).

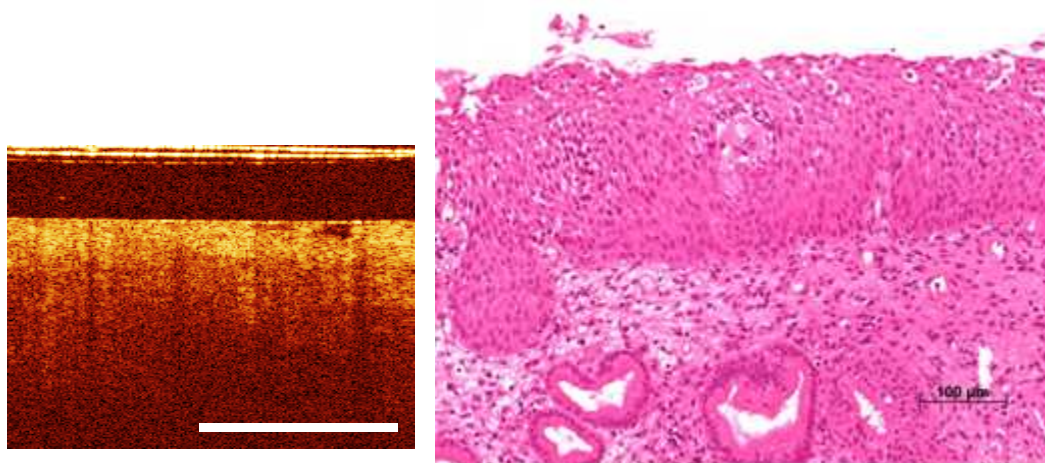


Abbildung 29: Bilder einer CIN II. Optisch ist keine klare Schichtung mehr vorhanden (Bild links), dunkle säulenartige Strukturen scheinen in Richtung Oberfläche zu drängen. Die dysplastische Veränderung im histologischen Schnitt beschränkt sich auf die unteren zwei Drittel des Epithels.

CIN III

Ein ähnliches optisches Erscheinungsbild wie das der CIN II-Läsionen zeigten OCT-Bilder von hochgradigen Dysplasien und Carcinomata in situ. Hier ist optisch ebenfalls keine horizontale Schichtung vorhanden, dunkle Säulen scheinen bis an die Oberfläche vorzudringen. Die starke aber nicht gleichmäßig über das gesamte Epithel verteilte Dysplasie und somit veränderte Streuung führt vermutlich zu dieser optischen Erscheinung. Auch die für höhergradige Dysplasien typische Neoangiogenese könnte hierbei eine Rolle spielen. Das Licht dringt z.T. nur mehr bis in die obersten Schichten ein und wird dann durch die große Streuung im Epithel ausgelöscht. Je nach Ausmaß der betroffenen Epithelschichten ist dieses optische Phänomen unterschiedlich stark ausgeprägt. Die Säulen könnten auch durch die Tatsache resultieren, dass sich die feste Epithel-Stroma-Struktur mit dem Grad der Dysplasie auflockert (Abb. 30).

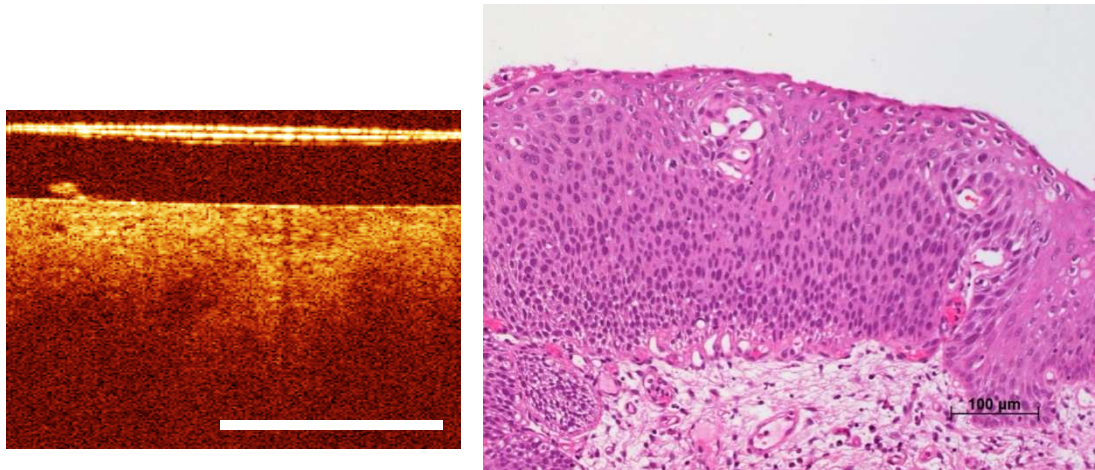


Abbildung 30: Bilder einer CIN III: Das Licht dringt nur mehr in die oberste Schicht ein, dunkle Säulen scheinen bis an die Oberfläche zu drängen. Histologisch ist die Dysplasie auf die gesamte Epithelbreite ausgedehnt.

Invasives Karzinom

Die kohärenztomographische Darstellung von invasiven Karzinomen ist relativ gut gegen hochgradige Dysplasien abzugrenzen. Das OCT-Bild zeigt bei invasiven Karzinomen eine scheinbar homogene Abnahme der Signalintensität über die Distanz. Die geschichtete Architektur ist völlig aufgelöst. Die Signalintensität nimmt homogen mit der Eindringtiefe ab (Abb. 31 und 32).

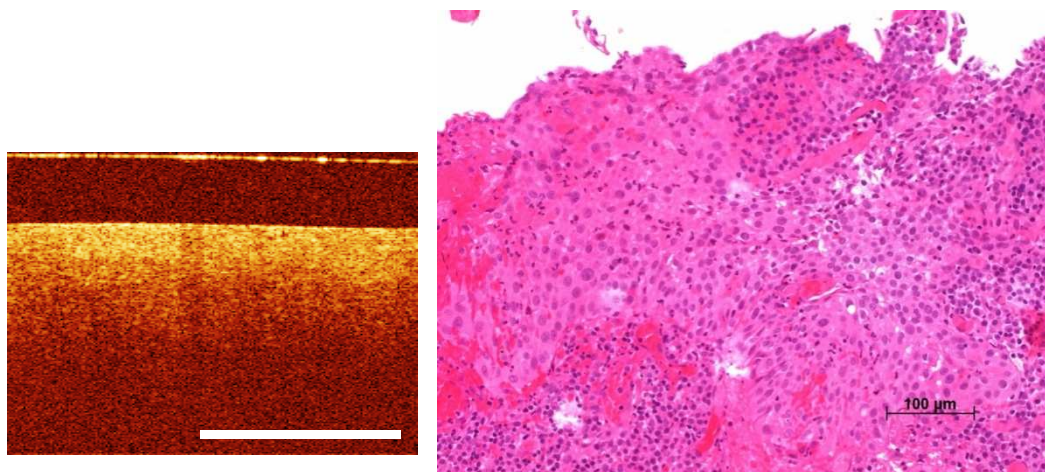


Abbildung 31: Invasives Karzinom. Im OCT-Bild links stellt sich eine über das Bild homogen abfallende Signalintensität dar. Keinerlei Schichtung ist auszumachen. Rechts im histologischen Korrelat zeigt sich der Durchbruch der Basalmembran.

In Abb. 32 ist der Verlauf einer CIN III über ein mikroinvasives Karzinom in ein invasives Karzinom in der OCT dargestellt. Die Struktur des mikroinvasiven Karzinoms ist wirt, die Dreischichtung ist unklar, die Beurteilung durch gefäßartige Strukturen innerhalb des Epithels erschwert.

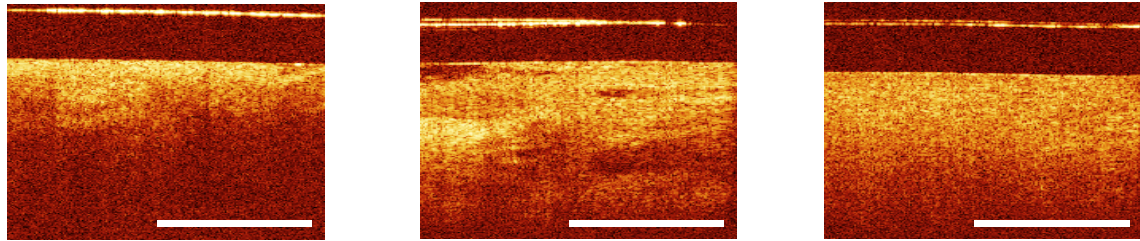


Abbildung 32: links CIN III, Mitte Übergang CIN III in Ca, rechts Ca

Die von Escobar et.al. [42] definierten Kriterien zur optischen Beurteilung der Bilder konnten durch unsere Studie größtenteils bestätigt werden.

Allein anhand optischer Kriterien (wie in diesem Kapitel für die verschiedenen Dysplasien beschrieben) wurden die OCT-Bilder zu 55% den Befundklassen „Normalbefund/benigner Befund“, „Entzündung“, CIN I, CIN II, CIN III, und invasives Karzinom korrekt zugeordnet.

3.4.4 Benigne Veränderungen der Zervix in der OCT und Histologie

Bei den benignen Veränderungen war das optische Darstellungsmuster sehr variabel. Eine reine ausgeprägte Entzündung zeigte sich in der OCT z.T. mit einer sehr signalreichen Schicht an der Oberfläche. Das Licht drang meist nicht in die darunterliegenden Schichten ein und wurde schlagartig ausgelöscht (Abb.33). Im Bild einer Hyperplasie zeigte sich klassischerweise ein verbreitertes Epithel mit normaler Schichtung, wobei aufgrund der starken Varianz der Normdicken eine Diagnose allein durch die OCT schwierig ist. Zu beachten ist, dass sich zuweilen auch eine Spongiose optisch ähnlich darstellt (Abb.35). Polypen und Warzen, sowie Metaplasien und ausgeprägte Spongiosebildung zeigten jedoch kein einheitliches Bild. In der Abbildung 34 sind einige Beispiele benignen Veränderungen gezeigt. Polypen zeigten keine Schichtung, anstatt dessen konnten zapfenartige Strukturen in der OCT beobachtet werden. Auch bei Spongiosebildung (man vergleiche Abb. 34 und 35), ausgeprägter Metaplasie und mikroglandulärer Hyperplasie war die Schichtung zum Teil nicht vorhanden.

Ergebnisse

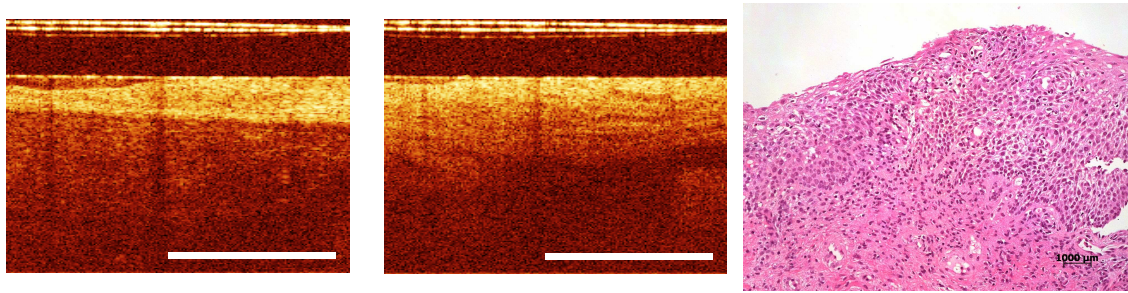


Abbildung 33: links 1 Uhr SSL und Mitte 5 Uhr SSL: OCT-Bilder einer ausgeprägten Entzündung mit reaktiver Plattenepithelveränderung, rechts: korrespondierende Histologie für die PE bei 5 Uhr SSL

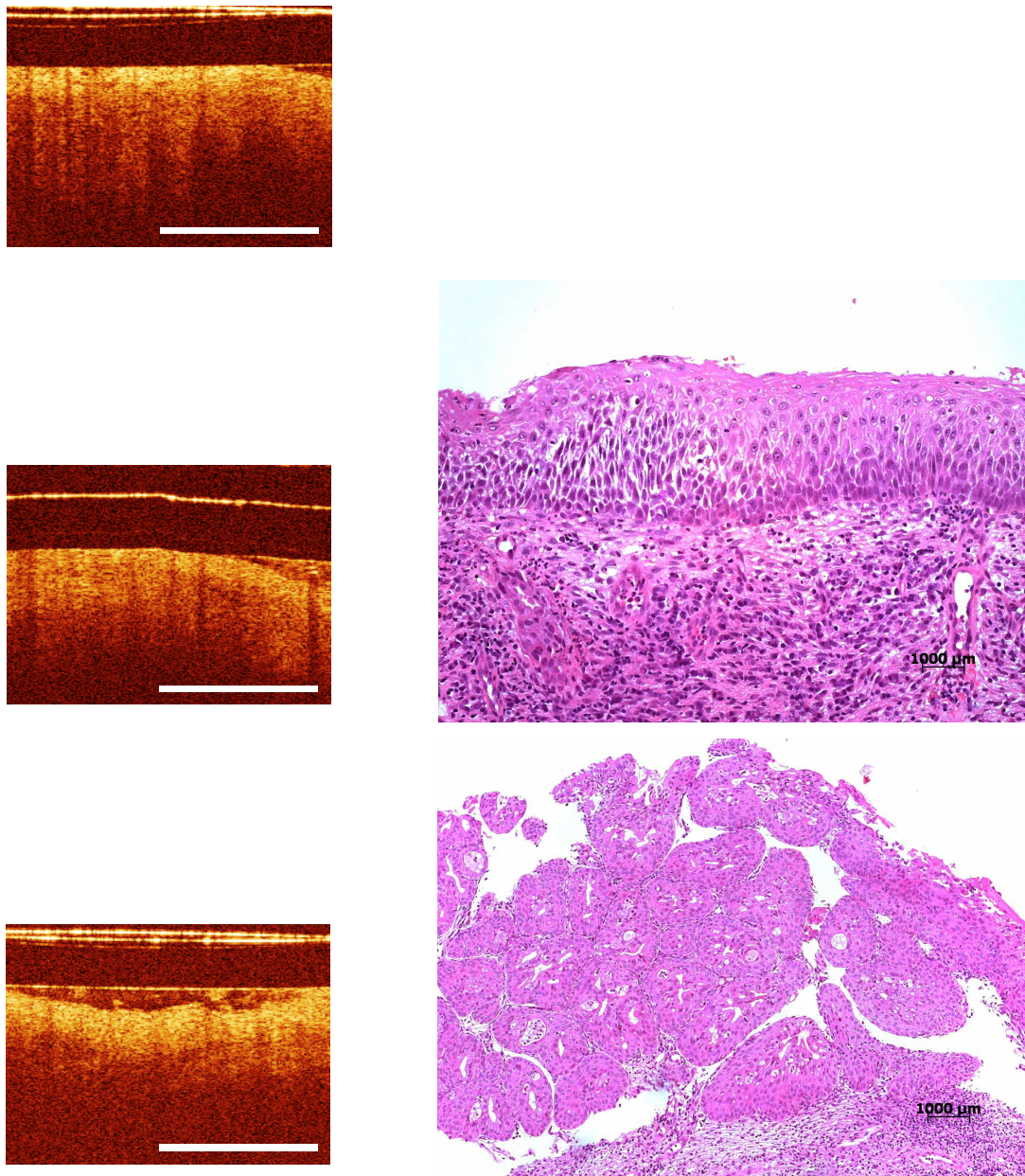


Abbildung 34: Benigne Veränderungen: Das Bild in der Reihe oben zeigt das OCT-Bild eines Polypen, die Bilder in der mittleren Reihe zeigen eine deutliche Spongiose, was einer Dilatation der interzellulären Spalträume des Plattenepithels entspricht, das OCT-Bild unten zeigt eine Plattenepithelmetaplasie bei mikroglandulärer Hyperplasie, daneben die korrelierenden Histologien.

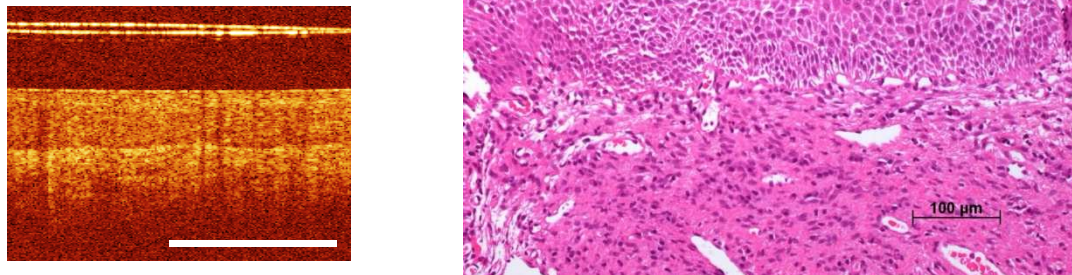


Abbildung 35: Bild einer Spongiose des Plattenepithels (links OCT, rechts histologischer Schnitt, H.E.-Färbung).

3.5 Quantitative Bildanalyse

3.5.1 Intensitätsprofile

Die optischen Bewertungskriterien in der Unterscheidung von gesundem und verändertem zervikalen Plattenepithel wurden bereits oben beschrieben. Retrospektiv wurden Intensitätsprofile von einigen Beispielen erstellt, um die optische Darstellung zu veranschaulichen. Die folgenden Intensitätsprofile sollen gewisse optische Muster repräsentativ auf quantitativer Ebene zeigen:

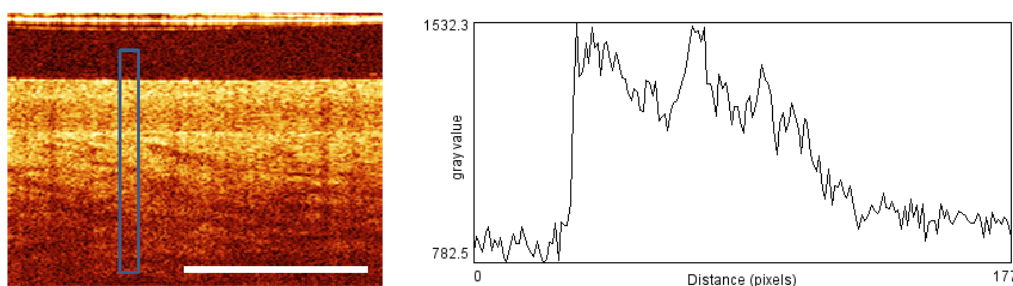


Abbildung 36: Intensitätsprofil von normalen Plattenepithel bei 12 Uhr

Das gesunde Plattenepithel zeigt im Intensitätsprofil nach einem optischen Vorlauf den Beginn des Epithels mit einem Intensitäts-Peak. Innerhalb des Epithels ist eine kontinuierliche Signalabnahme in zwei Schritten zu sehen. Ein zweiter Peak zeigt den Übergang zum Stroma an, hier ist die Basalmembran anzunehmen. Innerhalb des Stromas

Ergebnisse

ist ein mehr oder weniger steiler Abfall der Intensität zu sehen, bis schließlich die Grenze der Eindringtiefe des Lichts erreicht wird. Stufen innerhalb des Abfallens spiegeln die lamelläre Struktur des Stromas mit den kollagenen Fasern wider (Abb.36). Abbildung 37 zeigt ebenfalls das Profil von gesundem Plattenepithel mit dem deutlichen zweistufigen Abfall der Intensität innerhalb des Epithels (repräsentiert die Superfizialschicht und Intermediärschicht des Epithels) unter Einschluss eines Gefäßes im Stroma. Der Stroma-Peak ist hier wie gewöhnlich größer als der Epithel-Peak, wobei dies wie auch die Epitheldicke intra- und interindividuellen Schwankungen unterliegt.

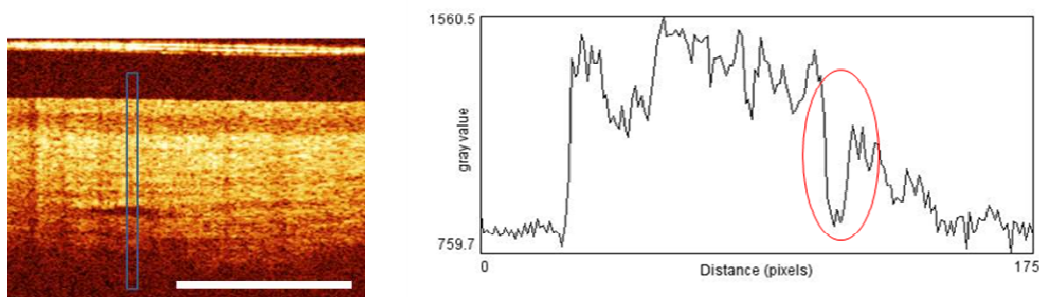


Abbildung 37: Intensitätsprofil gesunden Plattenepithels Einschluss eines Gefäßes (rot markiert)

Dysplasien zeigen entsprechend zur optischen Darstellung keine klare Dreischichtung im Intensitätsprofil. Auf den optischen Vorlauf der Sonde folgt der Intensitätspeak beim Eingang in das Epithel. Das Licht fällt bei hochgradigen Dysplasien (CIN III) aufgrund der starken Zellveränderung rasch ab, und dringt nicht weit in das Gewebe ein, da die Streuung an der Oberfläche relativ groß ist. (Abb. 38)

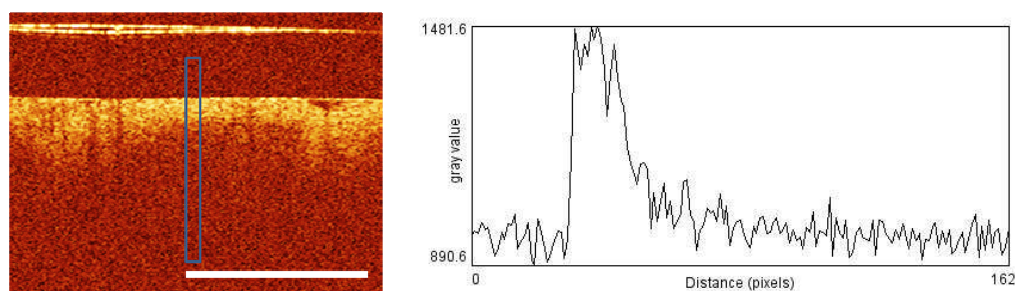


Abbildung 38: Intensitätsprofil einer hochgradigen Dysplasie

Bei einem invasiven Karzinom zeigt sich eine homogene Streuung über das gesamte OCT-Bild. Da sich das Karzinom mit veränderten Streueigenschaften sowohl im Epithel als auch im darunterliegenden Stroma befindet, wird das eindringende Infrarotlicht scheinbar zufällig gestreut und nimmt über das Bild kontinuierlich ab (Abb. 39).

Ergebnisse

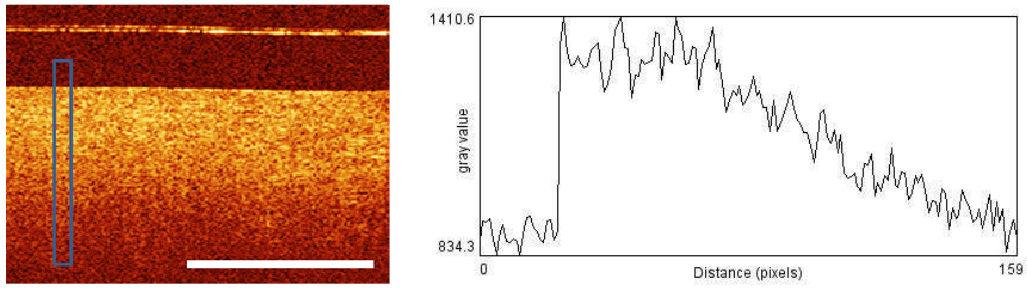


Abbildung 39: Intensitätsprofil eines invasiven Plattenepithelkarzinoms

4. Diskussion

Die Fähigkeit der optischen Kohärenztomographie, dem Untersucher im Rahmen einer Kolposkopieprechstunde unverzüglich nicht invasive in vivo-Informationen über die Epithelbeschaffenheit der Cervix uteri zu geben, machen sie zum einem möglichen wichtigen Bestandteil der Früherkennung und des Screenings des Gebärmutterhalskrebses. Aufgrund der weltweit hohen Prävalenz und Inzidenz der zervikalen intraepithelialen Neoplasien und der Möglichkeit, durch die rechtzeitige Therapie dieser Präkanzerosen das Zervixkarzinom zu verhindern, ist das Forschungsinteresse aufgrund des großen Potentials hierin besonders groß. Auch aus finanzieller Sicht ist dieses rentable Diagnostikverfahren aus dem Sektor der Biophotonik geeignet, die hohen Kosten der derzeitigen Früherkennungsprogramme zu senken.

In dieser Studie konnte bestätigt werden, dass mit Hilfe der OCT zervikales Gewebe bis in eine Tiefe von etwa 2 mm ohne Risiken und Nebenwirkungen für die Patientinnen in vivo dargestellt werden kann. Die OCT liefert risikofrei und nicht invasiv wertvolle Informationen über die Mikroanatomie des Epithels und besitzt zweifelsfrei das Potential, in der Tumorfrüherkennung und im Screening in Zukunft eine zentrale Rolle zu spielen. In Anbetracht der Tatsache, dass selbst durch die verbesserte Krebsfrüherkennung das Zervixkarzinom bei jungen Frauen immer noch die zweithäufigste maligne Erkrankung ist, wird der mögliche Stellenwert der OCT als nicht invasive Zusatzdiagnostik deutlich. Es ist in der Studie gelungen, zuverlässig krankes von gesundem Gewebe zu unterscheiden und auch das Ausmaß der Dysplasien (geringgradig versus höhergradig) einzuschätzen. Somit kann man sagen, dass die OCT eine wichtige Führung für die Biopsieentnahme gewährleisten kann. Durch den minimalen zeitlichen und logistischen Mehraufwand ist diese Methode im Rahmen der normalen Standard-Kolposkopie sinnvoll praktikierbar. Was den finanziellen Aspekt anbelangt, gilt es, mithilfe der OCT unnötige Biopsien aufgrund unzureichender differentialdiagnostischer Abklärung zu reduzieren. Probeexzisionen sollen durch die OCT gezielter durchgeführt werden und am punctum maximum der Läsion erfolgen. Falsch negative, aber vor allem falsch positive Kolposkopiebefunde sollen reduziert werden und letztlich auch unnötige Konisationen mit all ihren möglichen Folgen. Somit könnte die OCT auch unter finanziellen Gesichtspunkten eine interessante Ergänzung zu den derzeit praktizierten, z.T. aufwendigen und kostspieligen Standardverfahren darstellen. Interessant ist in diesem

Zusammenhang die Untersuchung durch Escobar et. al, dass die OCT in Gesundheitssystemen mit geringen finanziellen Mitteln eine wichtige Rolle als Screening-Verfahren spielen könnte [81]. Gerade in diesen Ländern mit geringen Ressourcen könnten die Kosten gesenkt werden, indem in einer einzigen Untersuchung eine relativ zuverlässige Diagnose gestellt und ohne Verzögerung eine Therapie eingeleitet werden würde.

Was den alleinigen Einsatz der OCT im Zervixscreening in westlichen Ländern anbelangt, sind weitere Studien nötig. Da es bisher noch nicht gelungen ist, den Grad der Dysplasie durch die OCT zuverlässig zu identifizieren, sind hier Verbesserungen erforderlich. Wir erwarten in diesem Hinblick technische Fortschritte durch Geräte mit höherer Auflösung, weniger Hintergrundrauschen, schnelleren Scan-Raten, 3D-Bildern, einem größeren Sondendurchmesser und vielleicht auch automatisierte objektivierbare Bewertungsalgorithmen. All dies könnte die OCT zu einem wertvollen Diagnostikverfahren machen. In Ergänzung zu den im Moment praktizierten Screeningverfahren (wie Pap-Abstrich und HPV-Testung) ist die OCT vom derzeitigen Standpunkt aus durchaus vielversprechend.

Im Folgenden sollen in dieser Hinsicht die Ergebnisse dieser Studie und die hier angewandte Methode diskutiert werden, nicht zuletzt im Zusammenhang mit der bereits bestehenden Literatur aus dem Bereich der Gynäkologie, sowie aus anderen Bereichen der Onkologie, in der die OCT zur Anwendung kommt. Ein Ausblick auf das praktische Anwendungspotential der OCT in Zukunft soll hierbei Hauptaugenmerk sein.

4.1 Diskussion von Material und Methoden

Die Tatsache, dass sich die optisch physikalischen Eigenschaften in dysplastisch verändertem zervikalen Epithel von denen in gesundem Zervixepithel erheblich unterscheiden, wird in der OCT dazu genutzt, diese veränderten optischen Eigenschaften durch Licht sichtbar zu machen. In dieser Studie wurde das TD-OCT NirisTM System der Firma Imalux benutzt, um den Nutzen dieses Prinzips in der zervikalen Diagnostik zu evaluieren. Technische Limitationen des Gerätes seien hier angeführt:

Allgemein ist zu beachten, dass die Tiefenschnittbilder des verwendeten TD-Modells zweidimensional sind. Die Akquisitionsrate von 0,66 Hz im hier verwendeten Gerät ist nicht ausreichend, um 3D-Bilder in Echtzeit zu generieren. Neuere FD-Modelle (der Firma MDL Michelson Diagnostics Ltd z.B.) sollen hierin einige Verbesserungen bringen (höhere Bildakquisitions- und schnellere Scanraten für 3D-Bilder, weniger

Hintergrundrauschen und eine noch bessere Auflösung) und werden in absehbarer Zeit auch klinisch verfügbar sein.

Die Eindringtiefe der Lichtsignale ist bedingt durch die optischen Eigenschaften des Gewebes auf ca. 2 mm begrenzt. Dies reicht im Allgemeinen aus, um dysplastische Prozesse zu erfassen, zumal sich diese im Epithel abspielen. Die limitierte Penetration könnte nur dann von Nachteil sein, wenn beispielsweise durch benigne Veränderungen des Gewebes wie etwa Hyperplasien, bei denen die Epitheldicke stark zunimmt, das Licht gar nicht bis zu den relevanten Strukturen vordringen kann.

Ein ähnliches und häufigeres Problem stellen Veränderungen dar, aufgrund derer Licht an der Oberfläche derart stark reflektiert bzw. absorbiert wird, dass keine Lichtsignale mehr in tiefere Schichten eindringen und sie zur Darstellung bringen können. Dies könnte etwa bei lokalen starken Entzündungen der Fall sein.

Hieraus ergibt sich auch die Überlegung, welche Limitationen und Nachteile aufgrund der Tatsache entstehen, dass die in der Studie verwendete Sonde einen relativ geringen Durchmesser von 2 mm besitzt. Das bedeutet nämlich, dass pro Scan nur ein sehr kleiner Bereich des Gewebes kohärenztomographisch untersucht werden kann.

- Zum einen birgt der geringe Sondendurchmesser die Gefahr, dass es zu einem Mismatching von Biopsie und entsprechender OCT-Aufnahme kommt, zumal die auffälligen Läsionen meist größer sind als mit einem einzigen OCT-Scan erfasst werden kann. Dieser mögliche Zuordnungs-Fehler wurde in der Studie dadurch minimiert, dass die OCT-Untersuchung unmittelbar vor der Biopsieentnahme und durch ein und denselben Untersucher geschah. Zudem wurde unverzüglich die Lokalisation von Gewebeentnahme und OCT-Bild auf einem Ausdruck des kolposkopischen Bildes festgehalten.
- Ein weiterer negativer Aspekt des geringen Sondendurchmessers ist, dass möglicherweise in der Biopsie mehr Material vorhanden ist, als durch den OCT-Scan erfasst wurde, was dazu führen könnte, dass in der Histologie eine fokale Diagnose von Gewebe entsteht, die in der OCT nicht miterfasst wurde. In unserer Studie gaben die Pathologen jedoch bei fokalen Herdbefunden die Heterogenität des Befundes an, so dass diesem Fakt meist Rechnung getragen werden konnte. Eine mögliche Lösung wären mehrere OCT-Bilder ein- und derselben Läsion zu machen, nicht zuletzt auch, um die Läsion kohärenztomographisch besser einschätzen zu können.

Ein weiterer hindernder Faktor in der OCT-Beurteilung ist die Tatsache, dass zystische Veränderungen und Schleimauflagerungen die Bild-Qualität beeinträchtigen können. Strukturen wie Drüsen oder Schleimzysten, auch Ovula nabotii, können dazu führen, dass die Gewebsstruktur an genau dieser Stelle nicht korrekt zu beurteilen ist. Ist die auffällige Läsion sehr klein, besteht u.U. nicht die Möglichkeit, die Sonde innerhalb derselben Läsion an anderer Stelle aufzusetzen und ein OCT-Bild zu gewinnen.

Die OCT ist nicht geeignet um Läsionen von zervikalem Zylinderepithel zu untersuchen. Hier ist die für Plattenepithel charakteristische Schichtung nicht vorhanden und das Drüsengewebe macht eine Beurteilung beinahe unmöglich, da sich im OCT-Bild das Drüsengewebe darstellt und eine Beurteilung der Schichtung nicht möglich ist. Dies stellt u.U. bei Frauen mit sehr großer Ektopie einen Nachteil dar.

Eine durch die OCT bisher noch nicht überwundene Hürde stellen endozervikale Dysplasien aufgrund der Sonden- und Hüllenbeschaffenheit dar. Die Sonde kann nicht, bzw. nur sehr schwer senkrecht auf Läsionen am Beginn des Zervikalkanals unter Aufspreizung durch eine Pinzette aufgesetzt werden. Gerade an diesen Stellen wäre der Bedarf an weiterer Diagnostik aufgrund der schlechten kolposkopischen Einsicht besonders wertvoll. Eine geeignete Sonde mit evt. flexiblem Sondenkopf wäre in Zukunft denkbar. In unserer Studie wurden einige Versuche gemacht, Gewebe am Übergang zum Zervikalkanal zu beurteilen, was jedoch nicht nur aus technischen Gründen schwierig war, sondern auch aufgrund der histologischen Beschaffenheit des Endozervikalgewebes. Das Zylinderepithel im Zervikalkanal weist keine geschichtete Struktur auf, es ist vielmehr ein einschichtiges in Falten angelegtes schleimbildendes Epithel, von Drüsengewebe dominiert. In den meisten Fällen waren die OCT-Befunde falsch positiv.

Die sterilen Einmalhüllen sind gut geeignet, Kontaminationen zu verhindern und die optische Sonde sicher und ohne Bewegungsartefakte auf die zervikalen Läsionen aufzusetzen. Der optische Vorlauf vergrößert sich durch die Hülle bei korrektem Einführen der Sonde (bis zum Anschlag) nur geringfügig und bringt keine signifikante Verringerung der Eindringtiefe mit sich. Ein Signalverlust durch das Passieren der Vorderwand der Hülle ist nicht zu erwarten.

Was die Beurteilung der OCT-Bilder anbelangt ist anzumerken, dass sie zwar nach objektiven Kriterien erfolgt, die Interpretation sich aber als schwierig erweist. Aus diesem Grund wurden mehrere verblindete Untersucher eingesetzt, um die Diskrepanz in der Bewertung zu beurteilen und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen. Die

Unterschiede zwischen den Untersuchern waren relativ klein (Cohen's Kappa zwischen $\kappa=0,6$ und $\kappa=0,7$ je nach Befundklassen).

Für den Real-time-Bewerter in dieser Studie war die Kolposkopie nicht einsehbar. Dennoch sind gewisse Einflüsse der Klinik innerhalb der Sprechstunde nicht gänzlich zu vermeiden, das Alter der Patientin und gewisse anamnestiche Fakten waren bekannt. Auch deshalb der Einsatz der verblindeten Bewerter zur besseren Qualitätsbeteiligung der OCT als unabhängiges Diagnoseverfahren.

Was die Betätigung der Konsole und somit den logistischen Aufwand betrifft, ist festzuhalten, dass die OCT-Untersuchung im Rahmen einer normalen Kolposkopiesprechstunde auch durch einen einzigen Untersucher gut durchzuführen ist. Durch ein Pedal wird das gleichzeitige Aufsetzen der Sonde und die Betätigung der Konsole möglich. Ein zweiter Untersucher, macht die Dokumentation und Speicherung der Bilder jedoch wesentlich einfacher.

Ein OCT-Scan des TD-OCT von Imalux® benötigt in etwa 2-3 sec. und ist somit eine schnelle Echtzeit-Informationsquelle. Der zeitliche Aufwand für eine ausführliche kohärenztomographische Untersuchung ist demnach je nach Bilderanzahl mit ca. 10 min. relativ gering.

Die Zukunft der optischen Kohärenztomographie liegt allerdings in FD-Modellen. Diesbezüglich erwarten wir an unserer Klinik neue Ergebnisse durch ein FD-OCT von Michelson Diagnostics Ltd. (MDL) mit Akquisitionsraten von 40 Hz und Auflösungen bis zu 7 μm in naher Zukunft. Es wird derzeit durch uns an ex vivo-Präparaten evaluiert, inwieweit diese 3D-Bilder neue Zusatzinformationen hinsichtlich dysplastischer Veränderungen ermöglichen. Ein anderer Faktor, der u.U. ausschlaggebend für die Zukunft der OCT sein könnte, ist die technische Weiterentwicklung der optischen Sonde. Ein größerer Durchmesser würde eine falsche Korrelation zwischen OCT-Bild und Biopsie verhindern und ein schnelles Vierquadranten-Screening der Zervix ermöglichen. Dies wäre ein Schritt in Richtung Einsatz der OCT als Screening. Bei dem an unserer Klinik verfügbaren FD-Gerät mit einem Sondendurchmesser von 5 mm handelt es sich um das multi-beam FD-OCT (Swept-Source) VivoSight® von Michelson Diagnostics, das zur Zeit auch in der Dermatologie Verwendung findet.

Im Allgemeinen konnten in den letzten Jahren im Bereich der Biophotonik gerade im Hinblick auf die zervikale Diagnostik große Fortschritte erzielt werden. Andere nicht invasive Techniken zur Beurteilung von Zervixgewebe werden derzeit dahingehend überprüft, inwieweit sie ergänzend zur OCT Informationen über zervikale Läsionen liefern.

Zu nennen sind zwei Methoden der Molekülspektroskopie (die Infrarot-Spektroskopie und Raman-Spektroskopie) und die konfokale Mikroskopie [82], zudem noch die laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie und die diffuse Weißlicht-Reflexions-Spektroskopie [38] oder die Kombination aus letzteren, die Fluoreszenz-Spektroskopie [39].

4.2 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass sich durch die OCT zervikale Dysplasien und Karzinome von gesunden Arealen der Cervix uteri mit einer aus zwei Untersuchern gemittelten Sensitivität von 96,5% und einer Spezifität von 40% unterscheiden lassen. Die Experten-Kolposkopie erreichte dagegen in unserer Studie eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 21%. Damit ist die OCT wie erwartet ein vielversprechendes Verfahren in der Zervixkarzinom-Früherkennung mit dem Potential Biopsien zu führen und falsch positive Kolposkopiebefunde einzugrenzen.

Was die horizontale Schichtung anbelangt, ist deutlich geworden, dass bezogen auf zervikales Gewebe die optische Schichtung nicht mit der histologischen Schichtung korreliert, wie es etwa in der Darstellung anderer menschlicher Schleimhäute beobachtet wurde (siehe unten). Die Schichtung ist so gut wie in allen gesunden Bildern vorhanden, sowie in der Hälfte der benigne veränderten und der CIN I-Läsionen. Bei CIN II und CIN III konnten wir beobachten, dass sich die Schichtung zum Großteil optisch nicht mehr darstellt, obwohl im histologischen Korrelat die Schichtung noch besteht. Die optische Schichtungsauflösung ist nicht durch den Durchbruch der Basalmembran bedingt, sondern vermutlich auf die stark veränderten Streueigenschaften und somit die Penetrationslimitation des Lichts zurückzuführen. Andererseits zeigte sich jedoch, entsprechend zu den histologischen Korrelaten bei allen Bildern des Karzinoms eine optische Aufhebung der Schichtung im Sinne der Stromainvasion. Alleine durch das Kriterium der Schichtung kann also keine genaue Unterscheidung zwischen invasiven Läsionen und nicht invasiven Läsionen erfolgen. Eine vorhandene Schichtung spricht aber definitiv gegen ein invasives Karzinom. Die Fallzahlen des Karzinoms sind in unserem Patientenkollektiv allerdings relativ klein.

Wir haben als erste den konkreten Versuch gewagt, durch die OCT die verschiedenen Dysplasiegrade zu identifizieren. Wie erwartet, war die exakte Zuordnung in die Befundklassen alleine anhand optisch subjektiver Bewertungskriterien noch nicht möglich,

wenngleich auch gewisse optische Muster für die einzelnen Dysplasiegrade erkannt, bzw. jene von Escobar et.al. [42] bestätigt wurden. Diese Muster ließen immerhin eine korrekte Echtzeit-Diagnose (7 Befundklassen) in 55% der Fälle zu (105 von 189 Fällen wurden exakt diagnostiziert), während durch die Kolposkopie nur 89 Läsionen korrekt diagnostiziert wurden, was 47% entspricht. Was eine Aussage über die genaue Zuordnung erschwert, ist die Tatsache, dass sich selbst Pathologen über die histologische Diagnose von etwa CIN II und CIN III häufig uneins sind. Gerade in diesem Bereich befanden sich die meisten Diskrepanzen zwischen OCT-Befund und histopathologischer Diagnose. Auch die Diagnose von unauffälligen Biopsien und CIN I ist nicht verlässlich reproduzierbar [36]. Es waren unterschiedliche Pathologen in die Studie einbezogen, was die Interobserver-Diskrepanz natürlich erhöht. Eine Zweitbefundung aller histopathologischen Schnitte durch einen geübten verblindeten Pathologen wäre hier vielleicht sinnvoll gewesen. Einerseits um einheitliche Befunde zu erhalten, andererseits auch um die Reproduzierbarkeit der histopathologischen Ergebnisse zu überprüfen. Des Weiteren kann natürlich trotz akkurater Durchführung von OCT-Untersuchung und Probeexzision eine falsche Zuordnung von OCT-Bild und Biopsie nicht mit hundertprozentiger Sicherheit ausgeschlossen werden.

An dieser Stelle ist auch zu erwähnen, dass die Sonde im Verlauf der Studie durch eine Manipulation an der Signalstärke schlagartig dunkler wurde. 44 Läsionen der Studie sind von der Signalabschwächung betroffen. Es wurden jedoch innerhalb dieser Fälle nicht, wie angenommen, mehr falsch positive Befunde generiert; 8 falsch positive auf 44 Läsionen entspricht exakt dem erwarteten Wert bei 34 falsch positiven auf 189 Fälle.

Man kann davon ausgehen, dass die Zukunft derartige technische Verbesserungen im Sinne einer Auflösung auf zellulärer Ebene bringt, dass auch das Grading der Dysplasien im Sinne einer optischen Biopsie möglich sein wird.

Um die Qualität des Diagnoseverfahrens unabhängig von jeglichen klinischen Einflüssen zu beurteilen wurden in unserer Studie alle Bilder von einem gegenüber der Kolposkopie verblindeten Erstbefunder beurteilt und zusätzlich zu einem späteren Zeitpunkt nochmals durch einen weiteren gegenüber der Klinik völlig verblindeten Beurteiler bewertet. Dieser Zweitbefunder war in der klinischen Untersuchung nicht anwesend und beurteilte isoliert die pseudonymisierten OCT-Bilder. Es zeigte sich eine sehr gute Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Untersucher mit Cohen's Kappa-Werten zwischen $\kappa=0,6$ und $0,7$. Die Einflüsse des Echtzeituntersuchers durch die Klinik der jeweiligen Patientin hatte also keine relevante Auswirkung auf die Bewertung. Es zeigte sich beim Erstbefunder ein

leichter Lerneffekt im Laufe der Studie, was beim bereits geübten Zweitbefunder keine große Rolle spielte, da alle Bilder zu einem Zeitpunkt befundet wurden.

Was die 34 falsch positiven Befunde durch die OCT anbelangt, ist zu sagen, dass in 21 dieser Fälle histopathologisch zusätzlich starke frische Entzündungen diagnostiziert wurden. 5 weitere falsch positive Befunde könnten durch das Vorhandensein benigner Pathologien wie Metaplasien, mikroglandulären Hyperplasien, ausgeprägte Spongiosabildung oder Polypen entstanden sein.

In den Abbildungen 33 bis 35 sind einige Beispiele dieser falsch positiven Befunde mit den histologischen Korrelaten angeführt. Betrachtet man diese Bilder mit den entsprechenden histologischen Schnitten ist es nachvollziehbar, warum in der OCT diese Bilder als falsch positive Bilder gewertet wurden. Das Bild der Entzündung bei 5 Uhr SSL wurde durch die OCT als CIN II-III gewertet. De facto zeigen sich in der Histologie veränderte Zellen über die gesamte Epithelschicht hinweg. Das Bild bei 1 Uhr konnte durch die abrupte Signalauslöschung auch in der OCT als typisches Entzündungsbild erkannt werden. Auch die deutliche Spongiosabildung, optisch gewertet als CIN II, und die mikroglanduläre Hyperplasie, gewertet als CIN I-II, haben durch ihre optischen Muster in die Irre geführt. Betrachtet man die korrelierenden Histologie-Schnitte ist diese falsche optische Information nachvollziehbar: Das Bild der Spongiosa zeigt Zellveränderungen bis in die mittlere Epithelschicht, das Bilder der glandulären Hyperplasie zeigt gar keine Schichtung in der Histologie. Das Bild der Hyperplasie zeigte lediglich eine verbreiterte Epithelschicht, bei erhaltener, unveränderter Epithelarchitektur, was sich auch im OCT-Bild klar als normal, aber hyperplastisch darstellen ließ. Der Polyp zeigte im OCT säulenartige Strukturen, die optisch als CIN II verkannt wurden, da sie den optischen Merkmalen mittel- bis hochgradiger Dysplasien ähneln.

Um die Bewertungskriterien zu standardisieren und reproduzierbar zu machen, wurde in Zusammenarbeit mit Imalux® Corporation versucht, mittels Epithelintensitätsmessungen die genauen Grade dysplastischer Veränderungen festzustellen. Dieser quantitative Ansatz hat jedoch bisher zu keinem repräsentativen Ergebnis geführt.

Es ist allem Anschein nach schwierig, reproduzierbare Standardkriterien objektiver Bewertung für die OCT-Bewertung zu erzeugen. Gelingt dies, wäre ein nächster Schritt eine automatisierte Bewertungssoftware, die die OCT auch der breiten Masse ungeübter Untersucher den Weg zur optischen Biopsie öffnet. Bis jetzt konnte in unserer Studie nur ein Miteinander von zahlreichen optischen Mustern (Schichtung, Eindringtiefe des Lichts, Säulenstruktur usw.) dazu herangezogen werden, die Bilder zu beurteilen. Es gelang

dadurch mit einer Sensitivität von 83% und einer Spezifität von 63% zumindest normale und benigne Bilder, sowie CIN I von mittel- und hochgradigen Dysplasien, sowie invasiven Karzinomen zu unterscheiden. Dies hat bezogen auf die therapeutische Konsequenz, die die Diagnose CIN II und v.a. CIN III nach sich zieht, großen klinischen Wert.

4.3 Vergleich mit Ergebnissen anderer Studien aus der Gynäkologie

Erste Ergebnisse über die erfolgreiche OCT-Untersuchung von zervikalem Gewebe lieferte bereits Sergeev et.al. [63] im Jahre 1997. Sergeev beschrieb als Mitglied des Gerätebegründer-Teams u.a. die in vivo Anwendung der OCT auf die Cervix uteri. Es wurde festgestellt, dass sich der charakteristische Aufbau verschiedener menschlicher Schleimhäute in der OCT als klare horizontale Schichtung darstellt. Erstmals wurden das Plattenepithel und die Lamina propria identifiziert. Sergeev et.al. stellten an 8 Patientinnen mit histologisch gesicherten Zervixkarzinomen fest, dass die klare horizontale Schichtung bei invasiven Karzinomen aufgehoben ist, während die Schichtung beim Carcinoma in situ (CIN III) noch besteht. Die Aufhebung der Schichtung in Bildern von invasivem Krebs konnte von uns bestätigt werden, allerdings ist die Schichtung in den meisten CIN III-Bildern in unserer Studie auch optisch aufgehoben, was die Bestimmung des genauen „Zeitpunkts“ des Basalmembrandurchbruchs durch das Kriterium der Schichtung nicht ermöglicht. Die Fallzahlen in der Studie von Sergeev et.al. sind zu klein, um definitive Aussagen bezüglich der Schichtung zu machen.

Pitris et.al. [83] untersuchten 1999 mittels OCT Zervixgewebe (sowie Endometrium) in vitro. 65 Läsionen von insgesamt 7 Patientinnen wurden untersucht. Sowohl gesunde Areale, als auch CIN-Läsionen und Karzinome waren dabei. Es wurde in OCT-Bildern der Ektozervix wiederum das Epithel und das Stroma identifiziert, sogar die Basalmembran als trennende Struktur konnte dargestellt werden. Die Bilder von CIN III bzw. CIS wurden als „dicke irreguläre Epithelschicht mit einer verdickten Basalmembran“ beschrieben. Auch endozervikales Gewebe wurde untersucht: Hier konnten tiefe endozervikale Drüsen dargestellt werden. In dieser ex vivo Studie wurde eine sehr hohe Auflösung von 6 µm x 10 µm erreicht.

Drezek et.al [39] stellten in „Optical imaging of the Cervix“ im Jahre 2003 zahlreiche neue optische Techniken zur Detektion von Neoplasien der Zervix dar. Neben zahlreichen Spektroskopie-Methoden und der konfokalen Mikroskopie beschrieb Drezek auch die

OCT. In dieser Studie wurden Nachteile der OCT angeführt. Genannt wurde der limitierte Kontrast des reflektierten Lichts zwischen Bildern von normalem und dysplastischem Gewebe, außerdem das begrenzte untersuchte Gesichtsfeld und die limitierte Eindringtiefe. Drezek spricht davon, dass die Bestimmung der Dysplasie-Grade vermutlich allein durch mikrostrukturelle Informationen aus herkömmlichen OCT-Geräten wohl nicht möglich ist. Hier sollen OCT-Geräte mit zellulärer und subzellulärer Auflösung Fortschritte bringen, wie das in ihrer Arbeit angeführte ultrahigh-resolution-OCT (mit einem Ti:Al₂O₃ Laser). Einzelne Koilozyten (10-30µm) in CIN-Läsionen konnten anhand dieses Lasers dargestellt werden. Drezek et. al. erwähnen zudem die Verwendung neuer Kontrastmittel um vor allem Verbesserungen hinsichtlich des Kontrasts zu erzielen.

Escobar et.al lieferten in den Jahren 2004 und 2006 wertvolle Ergebnisse. In einer ersten in vivo Studie [42] im Jahre 2004 sollten diagnostische Kriterien für die Beurteilung von OCT-Bildern (der Zervix und Vulva) definiert werden. Das Procedere war folgendes: an 50 Frauen, die aufgrund von auffälligen Pap-Abstrichen einer kolposkopischen Untersuchung unterzogen wurden, wurden OCT-Bilder von gesunden und auffälligen Läsionen (1-3 Bilder pro Läsion) der Zervix gemacht und anschließend multiple Biopsien entnommen. Die Histopathologie wurde nachträglich gemeinsam mit den OCT-Befunden korreliert und befundet. Ausschlusskriterium waren eine vorangegangene invasive Therapie der Läsionen durch Konisationen oder LEEP, sowie eine vorliegende Schwangerschaft. Es fand keine Echtzeitbefundung der Bilder in der Pilotstudie von Escobar statt, aber es wurden optische Kriterien für folgende Befundklassen erstellt:

- a) Normales Zervixgewebe mit einer klaren horizontalen Dreischichtung, stärkerer Rückstreuung im Stroma als im Epithel. Dieses Muster konnte in 100% der normalen Bilder zuverlässig erkannt werden. Auch eine stark variierende Epitheldicke (ohne genaue Quantifizierung) wurde festgestellt.
- b) Mäßiggradige und hochgradige Dysplasien zeigten eine Aufhebung der klaren Schichtungsstruktur, eine Intensitätszunahme im Stroma und ein verdicktes Epithel. Ein rascher Signalabfall wurde beobachtet. „Das Stroma drückt sich in dunkeln vertikalen Säulen in Richtung Oberfläche.“
- c) Invasives Karzinom mit einem unstrukturierten homogen stark rückstreuenden Bild. Komplette Abwesenheit der Schichtung.
- d) Metaplasie/Entzündung mit einer zum Großteil vorhandenen jedoch weniger scharfen Grenze zwischen Epithel und Stroma. Das Epithel scheint geschwollen und das Stroma ödematös.

Escobar et. al. [42] schreiben abschließend, dass hochgradige Dysplasien zum Teil ähnliche optische Merkmale wie die invasiven Läsionen zeigen und es deshalb schwierig sei, hochgradig prä-maligne von malignen Läsionen zu unterscheiden. Diese Aussage steht im Kontrast zu unserer Erfahrung, dass sich invasive Läsionen gut von hochgradigen unterscheiden lassen. Größere Fallzahlen sind hier wohl notwendig um endgültige Aussagen zu treffen. Ansonsten konnten die definierten Bewertungskriterien durch unsere Studie größtenteils bestätigt werden.

In einer kurzen Mitteilung 2005 [84] nahm Escobar Bezug auf den möglichen Stellenwert der OCT für Entwicklungsländer. Durch die Möglichkeit einer billigen, risikofreien Echtzeit-Diagnose mit anschließender Therapie ohne Zeitverzögerung könnte die OCT für Systeme mit niedrigen Ressourcen eine zentrale Rolle in der Zervixkarzinom-Früherkennung spielen.

2006 folgte von demselben Forschungsteam um Escobar eine neue Publikation [81]. In dieser Studie sollte die Sensitivität und Spezifität der OCT allein und zusammen mit der Beurteilung mit Essigsäure (VIA, visual inspection with acetic acid) und mit der Kolposkopie im Rahmen der normalen Vorsorge der westlichen Länder ermittelt werden. Andererseits sollte in derselben Studie die OCT auch als ad-hoc-Diagnostik (gemeinsam mit der Essigsäureapplikation) ohne bestätigende Biopsie in Entwicklungsländern geprüft werden. Es wurde eine reine Essigsäure-Diagnose (VIA), eine kolposkopische Diagnose und eine OCT-Diagnose erstellt. Anschließend wurden von allen Quadranten (2, 4, 8, 10 Uhr) mehrere Biopsien entnommen und nachträglich miteinander korreliert. 3 Untersucher beurteilten unabhängig alle OCT-Bilder. Die Übereinstimmung zwischen den 3 Untersuchern war mäßig ($\kappa=0,4 \pm 0,02$). Die Befundklassen waren „normal“, „unnormal“ und „undefiniert“ (bei Artefakten oder anderen physiologischen Veränderungen). Die Bilder wurden je dreimal befundet (keine Real-Time-Befundung): einmal mit dem Wissen des Alters der Patientin. Ein zweites Mal mit der Kenntnis über das unvergrößerte digitale Bild der Zervix und dem Essigsäure-Befund und ein letztes Mal mit der vollen Kenntnis über Pap-Abstrich, Kolposkopie-Befund und ein vergrößertes Bild der Zervix. Es wurden von 210 prä- und postmenopausalen Frauen nach ausführlicher Anamnese insgesamt 1215 OCT-Bilder und entsprechende Biopsien gewonnen.

Die Ergebnisse von Escobar zeigen, dass die Spezifität der VIA alleine durch die Hinzunahme der OCT fast verdoppelt werden konnte (von 34% auf 61%). Alle Ergebnisse wurden pro untersuchte Patientin berechnet und für jede einzelne Biopsie als

eigenständiges Ereignis. Für letzteres ergeben sich eine Sensitivität von 33% und eine Spezifität von 91% für die OCT, was im Widerspruch zu unseren Ergebnissen für die Unterscheidung von \leq CIN I und \geq CIN II (83% und 63%) steht.

An dieser Stelle soll angemerkt werden, dass in unserer Studie die Rate der falsch positiven Befunde dadurch erhöht sein könnte, dass hauptsächlich Patienten mit pathologischen Pap-Befunden eingeschlossen wurden, während Escobar v.a. gesunde Patientinnen untersucht hat, was die Rate der falsch negativen Befunde erhöht. Das Patientenkollektiv beeinflusst in dieser Hinsicht das Studienergebnis erheblich und ist in der Ergebnisinterpretation zu beachten.

Die OCT-Untersuchung von Zylinderepithel in der Nähe von oder im Endozervikalkanal beschreibt auch Escobar aus diversen Gründen als schwierig. Die Architektur ist nicht geschichtet, sondern von schleimproduzierenden Drüsen dominiert. Das senkrechte Aufsetzen der Sonde ist unter den vorliegenden Bedingungen schwer ohne Artefakte möglich. Mit Real-Time-Befundungen könnten laut Escobar einige falsch positive Kolposkopie-Befunde verhindert werden, zumal ausgeprägte Metaplasien (unreife, sowie reife) und auch Entzündungen häufige Gründe falsch positiver Kolposkopiebefunde darstellen.

2010 folgte von Liu et.al. [85] aus demselben Forschungsteam eine relativ neue Studie mit eben diesem Ziel: Es sollten die Sensitivität und Spezifität der OCT im Hinblick auf die Real-Time-Diagnose (\leq CIN I und \geq CIN II) berechnet werden. 1237 Biopsien von 299 nichtschwangeren Frauen wurden untersucht. Es wurden je 4 Biopsien in allen vier Quadranten bei 2, 4, 8 und 10 Uhr, eine Endozervikalkürettage und falls vorhanden Probeexzisionen auffälliger Läsionen entnommen. Bilder bei 12 Uhr und 3 Uhr (ohne Biopsie) wurden als Referenzbilder bezüglich der Epitheldicke herangezogen. Alle OCT-Bilder wurden in Echtzeit als „normal“, „undefiniert“ und „unnormal“ befundet. In der Kolposkopie waren die Klassen „normal“, „low grade“, „high grade“ und „cancer“ definiert. Die Sensitivität und Spezifität wurden für jede einzelne PE und pro Patientin ausgewertet, jeweils getrennt für den Cut off CIN II oder CIN III (Tab.16).

Diskussion

Tabelle 16: Ergebnisse der Publikation von Liu

| CIN I/ CIN II | Eigene Daten | Liu | Liu | Liu | Liu |
|--------------------------|-------------------------|---------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|
| | OCT OCT isoliert | OCT, je PE | OCT, je Patientin | Kolposkopie je PE | Kolposkopie je Patientin |
| Sensitivität | 83 % | 29% | 45 % | 60% | 74% |
| Spezifität | 63 % | 93% | 86% | 83% | 67% |

Wir sind der Meinung, dass die OCT-Analyse für jede einzelne PE am besten dazu geeignet ist, die Sensitivität und Spezifität der OCT an sich zu evaluieren. Die Analyse pro Patientin und diejenige für die relevanteste Biopsie spiegelt eher die klinische Realität und Relevanz wider, bewertet aber nicht die Sensitivität der OCT an sich.

Auch die konfokale Mikroskopie und die Spektroskopie werden als neue vielversprechende jedoch noch nicht ausreichend geprüfte optische Verfahren von Liu diskutiert. Auf Biomarkern basierende Techniken sind laut Liu in der Entwicklungsphase, aber auch diese Verfahren haben Einschränkungen: mehrere Untersuchungen sind nötig, die bedingte Eignung der Biomarker aufgrund des first-pass-Effekts der Leber. Hier kommt der finanzielle Aspekt dieser Verfahren zum Tragen.

Zuluaga et.al. [86] veröffentlichte 2004 eine Studie mit einem neuen Ansatz: Es wurden die Signalintensitäten und der Signalintensitätsabfall von histologisch normalem und auffälligem Zervixepithel (16 Patientinnen) gemessen und verglichen. Bei prämenopausalen Frauen war die Signalintensität von auffälligen Arealen signifikant höher als von normalen Arealen. Bei postmenopausalen Frauen wurde das Gegenteil beobachtet: normales Gewebe zeigte stärkere Intensitäten als auffälliges Gewebe, wobei der Unterschied nicht so deutlich war wie bei prämenopausalen Frauen. Der Unterschied im Signalabfall bei prämenopausalen Frauen zwischen normalen und auffälligen Stellen war nicht signifikant. Es wurde also gezeigt, dass die Signalintensität mit dem Auftreten von Dysplasien steigt. Die Streueigenschaften sind u.a. durch die vergrößerten Zellkerne in Dysplasien verändert. Bei postmenopausalen Frauen sind die veränderten Streueigenschaften des Gewebes durch ähnliche Zellveränderungen bedingt. Diese in prämaligen und malignen Läsionen veränderten Rückstreuungseigenschaften können in größeren Studien zur Unterscheidung zwischen Dysplasien und gesundem Gewebe durch Epithelintensitätsmessungen genutzt werden. Weiterführend wurde in unserer Studie gemeinsam mit Imalux® Corporation die Epithelintensitätsmessung sogar dazu genutzt, um

die verschiedenen Dysplasiegrade zu erkennen. Dies ist ein erster Ansatz, um die Dysplasien auf quantitativer Ebene zu diagnostizieren.

Einen ganz anderen Aspekt des Einsatzes der OCT in der Gynäkologie zeigen Vincent et.al. [87] im Jahre 2007 an einem Tiermodell (Makaken). Hier wurde die Epitheldicke der Affen ex vivo und in vivo ausgemessen (von 192 μm bis 248 μm) und die Auswirkungen von beispielsweise Nonoxynol-9 auf die Dicke des Epithels geprüft.

4.4 Vergleich mit Ergebnissen anderer OCT-Einsatzgebiete

Um die Vergleichbarkeit der eigenen Ergebnisse mit denen aus anderen Fachgebieten zu gewährleisten, wollen wir uns hier auf diejenigen Einsatzgebiete der OCT beschränken, die zum einen die menschlichen (Schleim)häute betreffen, zum anderen auch die OCT zur Beurteilung von malignen Prozessen einsetzen. Dies wären die Fachgebiete der HNO, der Dermatologie, der Gastroenterologie und der Urologie. Dazu soll in Folgendem anhand ausgewählter Publikationen Stellung bezogen werden.

Das Gerätebegründer-Team um Sergeev in Nizhny Novgorod [63] zeigte – wie bereits oben erwähnt - im Jahre 1997, dass es möglich ist, die OCT in vivo auf diverse menschliche Schleimhäute anzuwenden. Das Interesse von Sergeev et.al. galt v.a. den karzinomatösen Prozessen an der Schleimhaut des Ösophagus, des Magens, des Larynx, der Harnblase, der Cervix und des Corpus uteri. Dazu entwickelte Sergeev eine neue Methode, um die OCT-Sonde in herkömmliche Endoskope zu integrieren (endoscopic OCT, EOCT). Sowohl tumorös verändertes, als auch gesundes Gewebe wurde tomographiert und hinsichtlich der optischen Darstellung verglichen. In allen Bildern von gesundem Gewebe konnten eine horizontale Schichtung und gewisse, allen Schleimhäuten gemeinsame, Strukturen dargestellt werden: das Epithel (falls mehrschichtiges Plattenepithel), das Stroma mit Lamina propria (inklusive Blutgefäßen, Drüsen und Nervengewebe). Die Basalmembran definierte hierbei die scharfe Grenze zwischen schwächer streuendem Epithel und dem stark streuenden Stroma. Zusätzlich konnten abhängig vom Gewebe charakteristische Strukturen wie die Muscularis mucosae (Ösophagus), Pylorusdrüsen (Magen) und die Submukosa (z.B. Blase) dargestellt werden. Die mittlere Epitheldicke in den verschiedenen Organen variierte von 30-300 μm , was mit der Histopathologie übereinstimmte. In Bildern von tumorösem Gewebe war die klare Schichtung aufgehoben. Die Integrität der Schichtung stellt laut Sergeev die Grundlage zur Unterscheidung zwischen krankem und gesundem Gewebe dar.

Zahlreiche Publikationen in den verschiedenen medizinischen Bereichen folgten.

4.4.1 Optische Kohärenztomographie in der HNO

Analog zu unserem Studiendesign wurden in der HNO in diversen Studien Erythroplakien und Leukoplakien des oberen Luft- und Speisewegs kohärenztomographisch untersucht und mit den Histopathologien hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität verglichen. Hauptaugenmerk war dabei meist, wie in der Gynäkologie, die frühe Detektion von prämaligen und malignen Pathologien. Vorab ist hierbei zu erwähnen, dass die Varianz des histologischen Aufbaus der verschiedenen Gewebe allein im Mundbereich sehr groß ist. Die Vielfalt der möglichen Veränderungen dieser inhomogenen Strukturen ist ebenfalls beträchtlich. Trotz allem wurden in einigen Studien erstaunliche Ergebnisse erzielt.

So z.B. in einer neuen Studie von Wilder-Smith et.al [70] von 2009 aus Irvine, Kalifornien, in der 50 Patienten mit leukoplakien oder erythroplakien Läsionen ausschließlich im Mundbereich (an Zunge, Wangenschleimhaut und Mundboden) untersucht wurden. Für die OCT-Untersuchung wurden entweder eine fiberoptische 3D-Sonde mit einer Scanlänge von 10 mm oder die in unserer Studie verwendete 2D-Sonde mit 2 mm Scanlänge verwendet. Alle jene Läsionen, bei denen der histopathologische Befunde nicht in die Klassen gesund, dysplastisch oder maligne fiel, wurden nachträglich aus der Studie ausgeschlossen. Die histopathologischen Befunde wurden von 0 (normal) bis 6 (Plattenepithelkarzinom) (1=normal, 2=milde Dysplasie, 3=mäßige Dysplasie, 4=schwere Dysplasie, 5=Carcinoma in situ (CIS), 6=squamous cell carcinoma (SCC)) bewertet, wobei bei heterogenen Befunden immer der jeweils schlimmere Befund gewertet wurde. Je zwei verblindete im Vorfeld trainierte OCT-Beurteiler bewerteten die Bilder ebenfalls zwischen 0 und 6. Die Übereinstimmung zwischen den Beurteilern war mit einem Cohen's Kappa Wert von $\kappa=0,870$ hervorragend. Nach einem Monat wurde die Beurteilung mit denselben Bildern und Untersuchern wiederholt, um die Reproduzierbarkeit zu evaluieren. Der Cohens Kappa für die intraobserver Übereinstimmung war mit $\kappa=0,872$ ebenfalls sehr gut. Die Übereinstimmung mit den histologischen Diagnosen betrug, gemittelt aus den beiden Bewertern, $\kappa=0,858$. Die Sensitivität und Spezifität lag hinsichtlich der Unterscheidung zwischen CIS/SCC und nichtmaligen Läsionen bei jeweils 93%, was für die Klinik sicherlich die relevanteste Fragestellung darstellt. Für die Detektion von SCC aus allen anderen Läsionen zeigte sich eine Sensitivität von 93% und eine Spezifität von 97%.

Die Ergebnisse sind beachtlich, allerdings wurde die Gruppe der Läsionen nachträglich auf prämaligene Veränderungen beschränkt. Somit ist anzunehmen, dass einige falsch positive Befunde entfielen. Was die differentialdiagnostische Anwendung der OCT in der Praxis anbelangt, verliert diese Studie an Wert, da es klinisch darauf ankommt, prämaligene von

entzündlichen und anderen benignen Veränderungen (Hyperkeratosen und Hyperplasien) abzugrenzen. Allerdings ist es in dieser Studie gelungen, was sich in unserer Studie als sehr schwierig erwies, die verschiedenen Schweregrade der Dysplasie bis hin zum CIS und SCC rein durch das Auge kohärenztomographisch zu erkennen, und das, obwohl die Epithelien im Mundbereich sehr heterogen sind. Außerdem ist zu erwähnen, dass die Beurteiler in einem nur zweistündigen Training die Technik erlernten. Bei unserer Studie zeigte sich eine Lernkurve über Wochen hinweg.

Die klinische Relevanz der OCT für Läsionen des oberen Luft-Speisewegs ist besonders groß, da es im Vergleich zur Früherkennung des Zervixkarzinoms noch weniger brauchbare nicht invasive Früherkennungsmethoden für Hochrisikopersonen gibt. In der Studie von Wilder-Smith ist zwar erwähnt, dass es auch für die Untersuchung von oralen malignen Veränderungen Färbemethoden gibt, die – wenn von Experten durchgeführt – eine hohe Sensitivität von etwa 90% besitzen, allerdings eine sehr schlechte Spezifität aufweisen. Die orale Zytologie der Mundschleimhaut zeigte bislang keine guten Ergebnisse. Hier gibt es also durchaus parallele Fragestellungen, die sich auch für die zervikale Krebsfrüherkennung stellen.

Eine weitere Studie aus Irvine, Kalifornien, wurde 2005 von Wong et.al. [71] publiziert. In dieser Studie wurde der Larynx und Stimmlippenbereich von 82 Patienten während einer Kopf-Hals-Endoskopie kohärenztomographisch untersucht und anschließend 60 Läsionen mit der Histopathologie korreliert. Nur Gewebe ohne Pathologie und benigne Veränderungen wurden in der Studie ausgewertet. Prämaligne Veränderungen wurden bis auf wenige Beispiele invasiven Wachstums ausgeklammert. Erstes Ziel dieser Studie war es, die Epitheldicke in der Larynxregion auszumessen. Es wurde eine große inter- und intraindividuelle Dickenvarianz festgestellt: Die Subglottis zeigte mit 89 μm die geringste mittlere Epitheldicke, während die dicksten Epithelien an der Epiglottis zu finden waren (185 μm). Dies könnte eine Rolle spielen in der Einordnung gewisser benigner Veränderungen wie z.B. der epithelialen Hyperkeratose. Die Studie machte abermals deutlich, wie heterogen im HNO-Bereich die Epithelbeschaffenheit selbst innerhalb einer einzigen Region ist, wodurch die Bildbewertung erschwert wird.

Zweites und wichtigstes Ergebnis laut den Autoren dieser Studie ist zudem, dass die optische Aufhebung der Schichtung und der klaren Epithel-Stroma-Grenze (bzw. der Verlust der Basalmembranintegrität) nur bei invasiven Prozessen und Granulomen der Stimmlippen erfolgt. Bei den meisten benignen Prozessen (Zysten, Polypen, Hyperkeratosen und Schwellungen) ist die Basalmembran als Grenzmarke zwischen

Epithel und Lamina propria im OCT-Bild intakt. Dieses Kriterium der Integrität der Basalmembran kann also in der HNO herangezogen werden, um benigne von malignen invasiven Läsionen zu unterscheiden. Wie sich allerdings prämaligene Dysplasien abgrenzen lassen, was für das frühe Erkennen von prämaligen Läsionen und der Verhinderung von invasiven Karzinomen von zentraler Bedeutung ist, wird in dieser Studie nicht näher geschildert. (Diesbezüglich liefert eine Studie von Armstrong et. al. 2006 [68] Ergebnisse, die weiter unten noch angeführt werden.)

Auf die OCT der Zervix ist das Kriterium der intakten Schichtung alleine nicht anzuwenden. Hier zeigt ihre Aufhebung generell eine Veränderung auf. Selbst bei benignen Veränderungen und CIN I ist die Schichtung optisch manchmal aufgehoben, CIN II und CIN III zeigen im Großteil der Fälle eine komplette Aufhebung der Schichtung, wenngleich histologisch bei all diesen Läsionen die Basalmembran histologisch noch intakt ist. Allerdings wurde in unserer Studie bei allen invasiven Karzinomen eine Aufhebung der Schichtung beobachtet.

Es wird deutlich, dass die Bilder des Plattenepithels der Zervix anders zu beurteilen sind, als die Bilder in der HNO. Wobei die Zervixbilder ein relativ einheitliches Bild darstellen, während HNO-Läsionen und deren Krankheitsbilder sehr heterogen sind und für jeden Bereich eigene Kriterien festgelegt werden müssen.

Wie oben bereits erwähnt hat die Forschungsgruppe um Armstrong 2006, Irvine, Kalifornien [68], bezüglich der Basalmembran andere Ergebnisse erzielt. In dieser Studie wurden 26 Läsionen von 22 Patienten tomographiert und histologisch untersucht. Eingeschlossen wurden hier alle benignen, prämaligen und invasiven Befunde bei Patienten mit bereits stattgehabtem Larynxkarzinom. In 18 Fällen war die Basalmembran optisch durchbrochen, die Histopathologie zeigte hier tatsächlich klassische Befunde von invasivem Larynxkrebs. 3 der 6 benignen und prämaligen Läsionen zeigten jedoch im OCT-Korrelat ebenfalls keine Integrität der Basalmembran. Bei diesen drei falsch positiven Befunden handelte es sich um große exophytische prämaligene Läsionen. Hier war die Streuung an der Epitheloberfläche vermutlich so groß, dass der histologisch intakte Epithel-Stroma-Übergang nicht mehr zur Darstellung kam. Ähnlich ist es für zervikale Läsionen anzunehmen. Die Fallzahlen in dieser Studie sind sehr klein, es kann jedoch gezeigt werden, dass das Kriterium der Integrität der Basalmembran nur bedingt angewendet werden kann, um invasives von prämaligem und benignem Wachstum zu unterscheiden. Die Tumorgrenzen konnten in dieser Studie von Armstrong et.al. zweifelsfrei festgestellt werden.

Auch hier bietet die OCT in der Gynäkologie an der Zervix möglicherweise eine ähnliche Möglichkeit der Führung für die Konisation. Diesbezüglich bedarf es weiterer Untersuchungen.

Kraft et.al [69] aus Aarau, Schweiz, vergleichen in ihrer Veröffentlichung die Sensitivität der Mikrolaryngoskopie (MLS) mit der Sensitivität der Kombination aus Mikrolaryngoskopie und OCT (MLS plus OCT) in der Darstellung von laryngealen Läsionen. Durch MLS plus OCT konnte eine signifikant erhöhte Sensitivität erzielt werden. Die genaue Zuordnung gelang mittels MLS alleine in 80% der Fälle, hingegen in 89% durch MLS plus OCT. Der genaue Grad der Dysplasie konnte durch MLS plus OCT in 71% erkannt werden. Die Unterscheidung der verschiedenen Dysplasiegrade erfolgte anhand der Dickenmessung des Epithels. Auf das zervikale OCT-Bild ist die Dickenmessung nicht anzuwenden, da in den meisten Fällen nicht abgegrenzt werden kann, wo die Grenze zum Stroma verläuft.

Auch Kraft spricht die Integrität der Basalmembran in benignen und dysplastischen Veränderungen im Gegensatz zu invasiven Läsionen an: „Nach unseren Erfahrungen ist der Durchbruch der Basalmembran das wichtigste Kriterium für invasives Wachstum.“ Allerdings hat auch diese Studie ergeben, dass exophytisch wachsende Papillome und Granulome keine intakte Basalmembran zeigen, trotz des Fehlens von invasivem Wachstum. Die Erscheinung von Gefäßen und Einschlüssen innerhalb des Epithels beschreibt Kraft als weiteres Kriterium von Malignität. Dies konnte in unseren Bildern mit Zervixkarzinom nur in einem Fall gesehen werden (Abb. 32). Die Fallzahlen sind hier jedoch zu klein um wertvolle Aussagen treffen zu können.

4.4.2 Optische Kohärenztomographie in der Urologie

Cauberg et.al [88] aus den Niederlande gaben im März 2009 einen Überblick über die neuen optischen Diagnostikmethoden der Blase. Neben der Raman-Spektroskopie, der photodynamischen Diagnostik und dem „narrow-banding imaging“ spricht Cauberg auch von der OCT. Hier sind in kurzen Zeitabständen aufeinanderfolgend im Jahr 2008 erste Ergebnisse veröffentlicht worden. Es wird festgestellt, dass sich in gesundem Gewebe die Mikroanatomie mit dem Urothel, der Lamina propria und der Muscularis mucosae kohärenztomographisch genau identifizieren lässt. Laut Cauberg ist die OCT zwar nicht für ein Blasenscreening geeignet, sie gäbe aber genaue Informationen über Tiefe und Wachstum von Tumoren und lasse eine relativ genaue Vorhersage der histologischen

Diagnose zu. Die Dreischichtung verschwindet auch hier optisch bei Bildern von invasivem Blasenkarzinom. Auch die Signalintensität verändere sich in krankem Gewebe. Die ersten ex vivo Ergebnisse lieferten Hermes et.al im Jahre 2008 [55]. Es wurden gesunde und pathologische Stellen von 142 menschlichen Präparaten (von Zystektomien, radikalen Prostatektomien und transurethralen Tumorsektaten) mit der OCT 1 bis 6 Stunden postoperativ untersucht. Es wird beschrieben, dass sich in gesundem Gewebe das Urothel von der Lamina propria durch die Basalmembran klar abgrenzen lasse, wobei die Signalintensität des Urothels schwächer ist, als die des Stromas, mit einem Signalminimum am Übergang (Basalmembran). Durch diese Schichtung ließe sich invasives Wachstum zuverlässig ausschließen. Die Sensitivität für die Erkennung invasiven Wachstums war 83,8%, die Spezifität 78,1%. Im CIS der Blase ist – analog zu Bildern des Larynx [68,69,71]- die Dreischichtung noch vorhanden, wobei das optische Bild dennoch verändert ist. Zum einen wird das Signal des Urothels schwächer und inhomogener (anstatt stärker und dicker wie bei Larynxdysplasien [69]), auch das subepitheliale Bindegewebe ist verändert. Die Signalamplitude zwischen Epithel und Stroma wird insgesamt kleiner. Auch hier ist, wie in der HNO, das Kriterium der Integrität der Basalmembran zum Ausschluss invasiven Wachstums im Gegensatz zu zervikalem Gewebe herangezogen und größtenteils bestätigt worden.

Dass die Anwendung der OCT auf die Blaseschleimhaut auch in vivo ähnliche Ergebnisse erzielt, zeigten Lerner et.al. [72] noch im selben Jahr. Diese Forschungsgruppe korrelierte die OCT-Bilder (es wurde das NirisTM Imaging System verwendet) von 38 Blasenläsionen während einer konventionellen Weißlichtzystoskopie mit den histopathologischen Ergebnissen der Biopsien. Im gesunden Bild wird hier neben dunkler Mukosa, und klar abgegrenzter hellerer Lamina propria auch die Muskularis beschrieben, die dunkel und gestreift erscheint.

Auf die Mukosa begrenzte Tumoren (n=20 von 38) konnten mit einer Sensitivität von 90% und einer Spezifität von 89% erkannt werden. In diesen Fällen stellte sich eine klare Grenze zwischen Urothel und Stroma dar, das Epithel war jedoch meist verdickt (diese Verdickung bei Dysplasien zeigte sich auch in der Studie von Kraft et.al [69]). Die Abgrenzung dieser Läsionen zu anderen benignen Veränderungen wird in der Arbeit nicht näher beschrieben. Die Invasion der Lamina propria wurde in 3 von 4 Fällen richtig erkannt (Sensitivität 75%), aufgrund der geringen Fallzahlen müssen diese Zahlen jedoch vorsichtig interpretiert werden. Muskelinvasive Tumoren (n=7 von 38) konnten zu 100% erkannt werden, mit einer Spezifität von 90%. Die letztgenannten Fallzahlen sind sehr

klein, was die hohe Sensitivität in kritisches Licht rückt. Zudem gab es mehrere falsch positive Befunde. Als Gründe werden angeführt: Erosionen, Granulome, Narben und Adenome, deren optische Darstellung nur dürftig erklärt ist. Nachteil der Studie ist, dass der intraoperative Beurteiler der OCT-Bilder die klinische Vorgeschichte und OP-Indikation der Patienten kannte.

4.4.3 Optische Kohärenztomographie in der Gastroenterologie

Erste ex vivo Versuche folgten auf die Ergebnisse von Sergeev et.al im Jahr 2000 durch Pitris et.al. [56] auch in der Gastroenterologie. An frischen OP-Präparaten von 14 Patienten wurde gesundes und karzinomatöses Gewebe von Ösophagus und Kolon untersucht. Es konnte am gesunden Ösophagusgewebe analog zur Histologie eine klare Schichtung festgestellt werden: das Plattenepithel, die Lamina propria und die Muscularis mucosae. Wobei sich im Gegensatz zur Urologie und HNO das Epithel als hyperreflektierend darstellte und die Lamina propria als hyporeflektierend. Bei der Metaplasie im Bild des Barrett-Ösophagus war die klare Schichtung nicht mehr zu sehen, Zylinderepithel war hier optisch zu identifizieren. Beim Plattenepithelkarzinom war die Schichtung komplett aufgehoben, Tumorzellknötchen konnten dargestellt werden.

Bei der gesunden Schleimhaut des Kolons konnten ex vivo die Mukosa, die Muskularis mucosae und die Submukosa dargestellt werden. Regelmäßig geordnete Krypten und Villi waren optisch zu sehen, was dem histologischen Bild entsprach. Bei der Colitis ulcerosa konnten entsprechende ulzerative Läsionen zur Darstellung gebracht werden. Im optischen Bild des Kolonkarzinoms zeigten sich Änderungen der Mikrostruktur und dilatierte Krypten, was ebenfalls histopathologisch bestätigt werden konnte.

Diese Ergebnisse konnten 2005 von Westphal et. al. [57] auch für den unteren Gastrointestinaltrakt (Ileum, Kolon, Rektum) an ex vivo Resektionspräparaten bestätigt werden. Wobei hier festgestellt wurde, dass sich bei komprimierbarem Gewebe je nach Fettgehalt das OCT-Bild mit der Stärke des ausgeübten Druckes durch die Sonde ändert. Hauptaugenmerk dieser Studie war, die Epitheldicke und die Auswirkungen des veränderten Sondendrucks auf die Epitheldicke zu bestimmen und mit der Histologie zu vergleichen.

Die Forschergruppe um Isenberg [65] ebenfalls aus Cleveland, Ohio (USA), beschäftigte sich im selben Jahr hauptsächlich mit der kohärenztomographischen in vivo Untersuchung von Ösophagus-Dysplasien, dem präkanzerösen Barrett-Ösophagus. Vier Untersucher korrelierten während einer Endoskopie 314 OCT-Bilder von auffälligen Arealen mit der

entsprechenden Histologie. Die Kategorien waren leichte Dysplasie, hochgradige Dysplasie und intramukosales Karzinom. Die Sensitivität betrug nur 68%, die Spezifität 76%.

Eine neue Publikation (2008) stammt von Testoni et. al. aus Mailand [58]. Diese Forschungsgruppe beschäftigte sich zusätzlich mit einem ganz anderen Bereich des Gastrointestinaltrakts, dem pankreatiko-biliären Gangsystem. Eingeführt in das Endoskop eines konventionellen ERCP-Katheters, sollte gesundes Endothel durch die optische Kohärenztomographie dargestellt werden. Die Diagnose von normalem Endothel des Gallengangsystems stimmte in 81,1% mit der histologischen Diagnose überein. Es wurde optisch eine Dreischichtung festgestellt: lumennah das einschichtige Endothel, angrenzend etwas signalreicher die fibromuskuläre Schicht und als letzte Schicht bei einer Beobachtungstiefe von 1 mm eine signalarme Schicht als Korrelat der glatten Muskulatur in der Nähe des Oddi Sphinkters. Ex vivo wurde an Präparaten von Patienten mit Pankreaskopfkarzinomen krankes Gewebe tomographiert. Entzündliches Gewebe zeigte eine klare Dreischichtung aber eine leicht verdickte erste Schicht, die Übereinstimmung in der Diagnose mit der Histologie lag nur bei 27%. Die Diagnose der Dysplasien stimmte in 62% mit der histopathologischen Diagnose überein. Bei histologisch gesicherten Adenokarzinomen war die Dreischichtung analog zu onkologischen Prozessen anderer menschlicher Schleimhäute völlig aufgehoben. Es zeigte sich ein heterogenes Streuungsverhalten. Die Übereinstimmung der Diagnose bei Karzinomen zeigte 100%.

4.4.4 Optische Kohärenztomographie in der Dermatologie

Seit 1991 wird das Prinzip der OCT auch in der Dermatologie klinisch erforscht. Aufgrund der z.T. starken Verhornung der menschlichen Haut hat dies jedoch einige Limitationen.

Gambichler et. al. [59] haben im Jahre 2005 einen Überblick der Anwendungsmöglichkeiten der OCT in der Derma gegeben. Allgemein ist die Heterogenität der verschiedenen Hautstellen des menschlichen Körpers zu beachten. Gambichler et. al. beschrieben die Anwendung der konventionellen OCT auf die unbehaarte Haut. Sie zeigten den diagnostischen Einsatz der OCT zur Darstellung von entzündlichen Hauterkrankungen, bläschenbildenden Hauterkrankungen und Hauttumoren auf und wiesen auch auf die Verwendung der OCT zur Therapieerfolgskontrolle hin, z.B. um den Effekt von Salben und Cremes auf die Haut zu objektivieren. In gesunder Haut ließ sich ohne direkten Hautkontakt ein Stratum corneum (in palmoplantaren Hautpartien), die

Epidermis und Dermis darstellen, wobei die epidermo-dermale Grenze oft verschwommen war. Auch Hautanhangsgebilde und Blutgefäße ließen sich identifizieren. Auf ein intensives Eingangssignal folgt eine weniger signalintensive Schicht, die Epidermis. Ein zweiter Signal-Peak zeigt den Übergang zur kollagenreichen Dermis an. Es kann folglich die Bestimmung der Dicke der Epidermis anhand einer Peak-Peak-Messung ähnlich wie in der zervikalen OCT erfolgen.

Was die Erforschung der OCT im Hinblick auf Tumoren anbelangt, bedarf es noch einiger Studien, in denen OCT-Befunde mit der Histologie korreliert werden, so wie es in unserer Studie systematisch durchgeführt wurde. Das Basalzellkarzinom würde sich wahrscheinlich besonders eignen. Melanozytische Nävi konnten bereits mittels OCT identifiziert werden. Jedoch ist die Unterscheidung zwischen benignen und malignen Nävi derzeit noch nicht möglich. Im Falle einer Invasion ist eine Aufhebung der epidermo-dermalen Grenze zu erwarten.

Es konnte laut Gambichler et. al. in mehreren Studien gezeigt werden, dass sich der Effekt von Salben und Cremes auf die Fingerbeere durch die OCT nachweisen lässt. Die Epidermis wird dünner, der Eingangsspeak geringer und die Eindringtiefe des Lichtsignals größer. Gambichler beschreibt zudem mehrere Versuche, die OCT an andere diagnostische Methoden zu koppeln, um den Bildkontrast zu erhöhen. Solche Methoden der funktionalen OCT sind beispielsweise die polarisations-sensitive OCT mit der Fähigkeit, die Doppelbrechungseigenschaften von kollagenhaltiger Haut darzustellen, die Doppler-OCT zur Messung von mikrovaskulären Blutströmen (20µm/sec.), die Spektroskopie und die OCT-Elastografie zur Detektion von mikroskopischen Deformationseigenschaften von Gewebe. Ähnliche Prinzipien werden derzeit auch für die zervikale Darstellung erforscht.

In einer prospektiven klinischen Studie an der Universität von Kopenhagen versuchten Jorgensen et. al. [60] im Jahre 2008 aktinische Keratosen (AK, n=41) und Basalzellkarzinome (BCC, n=37) mittels OCT zu unterscheiden. 34 Patienten, bei denen die klinische Diagnose AK oder BCC bestand, wurden durch einen verblindeten nicht-medizinischen Untersucher kohärenztomographisch untersucht. Da eine rein morphologische Beurteilung durch das Auge oft schwierig ist, wurde anhand der Bilder ein spezieller Lernalgorithmus erstellt, mit dessen Hilfe die Bilder auf relevante Merkmale (Eindringtiefe, Grad der Schichtung, Signalintensität, geometrische Größe, Dicke der Epidermis u.a.m.) hin geprüft und in die Klassen AK und BCC eingeordnet wurden. Jedes Bild einer pathologischen Läsion wurde in Relation zu einem gesunden Referenzbild von angrenzendem Gewebe ausgewertet. Dieses Prinzip wurde auch in unserer Studie bei der

Epithelmessung angewandt. Durch die speziell entwickelte Software wurden 73% der AK und 81% der BCC richtig erkannt. Ein Kritikpunkt, der bereits in der Arbeit angesprochen wurde, ist die geringe Fallzahl, die zum Trainieren der Auswertungssoftware herangezogen wurde. Durch eine sog. leave-one-patient-out-Taktik wurde versucht, Fehlern durch das reine Anlernen von Merkmalen eines Patienten entgegenzuwirken.

Bezogen auf die Epithelmessungen bei unseren Bildern wäre eine solche Automatisierung zwar sinnvoll, aber schwierig, da die Messfelder individuell unterschiedlich gesetzt werden müssen, um Artefakten aus dem Weg zu gehen. Ein ähnlicher Algorithmus für die Intensitätsmessungen könnte jedoch auch in der Gynäkologie einen Versuch wert sein.

König et. al. [61] versuchten an der Universität Jena im Jahre 2009 als erste die OCT mit der Multiphotonentomographie (MPT) und Dermatoskopie zu kombinieren. Die Dermatoskopie lieferte farbige zweidimensionale Informationen über die Oberflächenbeschaffenheit, die OCT (darunter ein multibeam sweptsource OCT mit einem Bild von 5mm Breite und 2mm Eindringtiefe) lieferte Informationen über Tiefe und Größenausmaß der Läsion. Die MPT schließlich lieferte Informationen über einen speziellen kleinen Bereich ($0,36 \times 0,36\text{mm}^2$) der Läsion mit zellulärer Auflösung bis in $200\mu\text{m}$ Tiefe.

Korde et. al. [62] untersuchten kohärenztomographisch sonnengeschädigte Hautareale und Präkanzerosen der Haut. Von 112 Patienten wurden je 2 sonnenexponierte Areale und je 2 sonnengeschützte Hautteile kohärenztomographisch untersucht und anschließend biopsiert. Von jeder Biospie wurde die sogenannte Solare Elastose (SE) ermittelt um den Grad der Sonnenschädigung zu bestimmen. Es zeigte sich in OCT-Bildern sonnengeschädigter Haut eine raschere Signalabnahme, die mit dem Grad der Sonnenschädigung anstieg, was zu einer geringeren Eindringtiefe führte. Der rasche Signalabfall könnte durch den erhöhten Melanin oder SE-Gehalt verursacht sein. Die AK-Bilder waren sehr heterogen, zeigten jedoch zum Großteil ein dunkles Band an der Oberfläche, was auf eine Hyperkeratose zurückzuführen ist. Diese optischen Eigenschaften stellten auch die Merkmale dar, anhand derer durch die OCT die beste Sensitivität (86%) und Spezifität (83%) für das Erkennen von AK erreicht wurde. Verglichen mit der dermatologischen Diagnose, die eine Sensitivität von 98% und eine Spezifität von nur 63% erreichte. Die Rate der falsch positiven Befunde durch die OCT war deutlich geringer als durch die dermatologische Untersuchung. Auch hier zeigte sich wieder eine Parallele zu unserer Studie in der durch die OCT einige falsch positive Befunde der Kolposkopie verhindert wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die OCT in all den genannten Fachdisziplinen dazu eignet, hochauflösend charakteristische Gewebsstrukturen darzustellen und zwischen krankem und gesundem Gewebe zu differenzieren. In allen Bereichen hat die OCT das Potential ergänzend zur bisherigen Standarddiagnostik auch endoskopisch routinemäßig eingesetzt zu werden, und Zusatzinformationen zu liefern.

4.5 Schlussfolgerung, Ausblick auf die Zukunft

In der Gynäkologie steht die optische Kohärenztomographie im Vergleich zu anderen medizinischen Fachbereichen erst am Anfang. Mit zunehmender Erfahrung und technischer Weiterentwicklung der Geräte, insbesondere im Bezug auf die Auflösung, kann es in Zukunft gelingen, Dysplasien der Zervix noch exakter zu beurteilen. Im Moment könnte das Verfahren zur genauen Eingrenzung etwaiger Biopsiestellen genutzt werden. Auch kann die Häufigkeit falsch positiver Kolposkopiebefunde durch die Verfügbarkeit dieser neuen nicht invasiven Messebene deutlich reduziert werden.

Im Allgemeinen kann man sagen, dass die OCT eine anatomisch differenzierte Darstellung oberflächlicher Gewebeveränderungen der Cervix uteri erlaubt und somit für die zervikale Diagnostik geeignet ist. Mit einer Auflösung im Mikrometerbereich und einer Gewebedarstellung bis 2 mm Tiefe bietet dieses neue Verfahren die Möglichkeit in Echtzeit Dysplasien und Karzinome mit hoher Sensitivität von normalem Gewebe zu unterscheiden und bereits zwischen geringgradigen und höhergradigen Dysplasien mit annehmbarer Genauigkeit zu differenzieren. Es ist denkbar, dass die optische Kohärenztomographie mit zunehmender Erfahrung und technischer Weiterentwicklung zu einem wichtigen zusätzlichen diagnostischen Instrument in der onkologischen Gynäkologie werden könnte. Auch aus logistischer und finanzieller Sicht ist die OCT durchaus ein rentables Verfahren und für den Einsatz im Rahmen der normalen Zervixkarzinomfrüherkennung geeignet. Um die zervikalen Läsionen noch genauer zu differenzieren und die exakten Grade der Dysplasien durch die OCT zu bestimmen, sind noch weitere groß angelegte Studien mit neuen Geräten mit höherer Auflösung nötig. Was den Stellenwert der neuen Untersuchungstechnik für das zervikale Screening betrifft, ist der Grundstein gelegt, es bedarf jedoch noch weiterer großer multizentrischer Studien, um den genauen Nutzen zu bestimmen.

Weitere Geräte aus dem Bereich der Biophotonik liefern zusätzlich vielversprechende optische Informationen über zervikale Läsionen und können mit der OCT kombiniert

werden. So ist die indirekte Darstellung von Gewebe anhand verschiedener Spektroskopie-Methoden, wie auch mit direkten Verfahren wie beispielsweise der konfokalen Mikroskopie möglich. Die konfokale Mikroskopie wurde durch die FDA bereits für die Dermatologie zertifiziert, ist jedoch teurer als die OCT [85], die Spektroskopie steckt noch in den Anfängen der Entwicklung. Alle diese Technologien haben ihre technischen Limitationen, was durch die Entwicklung neuer Kontrastmittel speziell für maligne Prozesse auf molekularer Ebene verbessert werden soll [39]. Bisherige Studien ergaben keine eindeutigen Ergebnisse, weitere groß angelegte Studien überprüfen nach festgelegten Kriterien all diese Technologien, mit dem Ziel bessere Ergebnisse als die herkömmlichen Verfahren zu erzielen. Auch der Nutzen durch eine Kombination mehrerer optischer Verfahren soll überprüft werden.

Ob die optische Biopsie den derzeitigen Goldstandard der Knipsbiopsie tatsächlich ablösen kann, wird die Zukunft zeigen.

5. Zusammenfassung und Perspektive

Die optische Kohärenztomographie ist ein nicht invasives Untersuchungsverfahren, mit dem in Echtzeit hochauflösend Gewebestrukturen der Zervix bis in eine Tiefe von etwa 2mm dargestellt werden können. Ähnlich dem Prinzip der Sonografie werden zwei- bis dreidimensionale Tiefenschnittbilder erzeugt. Die hohe Bildauflösung der OCT von besser als 15µm ist ideal für den Nachweis kleinster morphologischer Veränderungen in der Frühphase der Tumorgenese. In der Gynäkologie eignet sich die OCT als neues diagnostisches Verfahren in der Beurteilung dysplastischer Veränderungen der Cervix uteri und bietet eine denkbare Alternative zu dem derzeitigen diagnostischen Goldstandard, der Biopsie.

Die Anfänge des OCT-Einsatzes in der Gynäkologie gehen auf 1997 zurück. Untersuchungen an in vitro Präparaten ließen 1999 erkennen, dass eine reproduzierbare Darstellung der Gewebestrukturen von Endo- und Ektozervix mit Epithel, Basalmembran und Stroma möglich ist [83]. In einer ersten in vivo Studie an 50 Patientinnen entwickelten Escobar et al. optische Kriterien zur Unterscheidung von Normalbefund, CIN, invasivem Karzinom und Entzündung, die auch in der hier vorliegenden Untersuchung Eingang fanden [42]. Eine sichere Unterscheidung der einzelnen CIN Stadien ist aber unter den gegebenen technischen Voraussetzungen noch nicht möglich.

Mit Hilfe der vorliegenden prospektiven in vivo Studie konnte anhand der Untersuchung von 189 Biopsien von 106 Frauen Folgendes gezeigt werden:

- 1) Mit einer Sensitivität von 96,5% und einer Spezifität von 40% konnten zervikale Dysplasien und Karzinome von gesunden bzw. benigne veränderten Arealen unterschieden werden. Die Übereinstimmung beider Untersucher war sehr gut.
- 2) Es konnten optische Darstellungsmuster für die verschiedenen Veränderungen definiert werden und die bestehenden Bewertungskriterien von Escobar et.al. [42] bestätigt werden. Mit einer Sensitivität von 83% und einer Spezifität von 63% konnten sogar zwischen geringgradigen und hochgradigen Dysplasien unterschieden werden (\leq CIN I vs. \geq CIN II) ($\kappa=0,6$). In 55% der Fälle war eine exakte Diagnostik in die Befundklassen „normal“, „Entzündung“, „andere benigne

Veränderung“, „CIN I“, „CIN II“, „CIN III“ und „Karzinom“ allein durch die OCT möglich.

- 3) Die OCT-Untersuchung lässt sich im Rahmen einer normalen Kolposkopie-Sprechstunde mit einem Mehraufwand von ca. 10 min. aus logistischer Sicht gut durchführen und bietet eine kostengünstige Ergänzung zur derzeit praktizierten teilweise problematischen Standarddiagnostik durch HPV-Testung, Pap-Abstrich und Kolposkopie. Probeexzisionen können gezielter durchgeführt, bzw. unnötige Biopsien verhindert werden.

Für die optische Kohärenztomographie ergeben sich laufend technische Neuerungen. Die Zukunft der optischen Kohärenztomographie liegt in FD-Modellen mit besseren Akquisitionsraten, 3D-Bildern und höherer Auflösungen. Auch die technische Weiterentwicklung der optischen Sonde ist von zentraler Bedeutung. Ein größerer Durchmesser könnte eine falsche Korrelation zwischen OCT-Bild und Biopsie verhindern und evt. ein schnelles Vierquadranten-Screening der Zervix ermöglichen.

Im Allgemeinen konnten in den letzten Jahren im Bereich der Biophotonik im Hinblick auf die zervikale Diagnostik große Fortschritte erzielt werden. Andere nicht invasive Techniken zur Beurteilung von Zervixgewebe werden derzeit dahingehend überprüft, inwieweit sie ergänzend zur OCT Informationen über zervikale Läsionen liefern. Zu nennen sind die Methoden der Spektroskopie und die konfokale Mikroskopie.

In anderen medizinischen Fachbereichen wird die OCT für eine hochauflösende Diagnostik des Auges insbesondere zur Erfassung von Schäden durch Glaukom, Makuladegeneration und Ödembildung bereits standardmäßig genutzt. Auch zur diagnostischen Abklärung arterieller Stenosen, insbesondere zur Lokalisation von Plaques, findet die Technik Anwendung. Umfangreiche Studien zur Diagnostik pathologischer Hautveränderungen mittels OCT erfolgen derzeit in verschiedenen Kliniken. Zudem werden Anwendungsmöglichkeiten auf dem Gebiet der Urologie, der Gastroenterologie und der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde intensiv untersucht.

Wie in anderen Bereichen der Medizin, besitzt die OCT auch in der Gynäkologie ein erhebliches Potential. Mit zunehmender Erfahrung und technischer Weiterentwicklung der OCT-Geräte, insbesondere in Bezug auf die Auflösung, kann es in Zukunft gelingen, Dysplasien der Zervix exakter zu beurteilen und etwaige Biopsiestellen besser einzugrenzen. Wir sind überzeugt, dass die Häufigkeit falsch positiver

Zusammenfassung und Perspektive

Kolposkopiebefunde durch die Verfügbarkeit dieser dritten, nichtinvasiven Messebene reduziert werden kann. In Kombination mit anderen nicht invasiven biophotonischen Untersuchungsmethoden kann das Vorhaben einer optischen Biopsie gelingen.

6. Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abb. 1: Altersspezifische Zervixkarzinom-Inzidenz in Deutschland (2004)..... | 2 |
| Abb. 2: Alterstandardisierte Inzidenz und Mortalität in Deutschland 1980-2004. | 2 |
| Abb. 3: Anzahl der Neuerkrankungen in Deutschland im Vergleich zu Westeuropa..... | 3 |
| Abb. 4: Altersstandardisierte Inzidenzrate pro Jahr, Westeuropäische Länder..... | 4 |
| Abb. 5: Prozentuale Verteilung der FIGO-Stadien | 5 |
| Abb. 6: Unauffällige kolposkopische Darstellungen..... | 16 |
| Abb. 7: Typischer Kolposkopiebefund nach Essigsäureapplikation (CIN I, II, III) | 16 |
| Abb. 8: Kolposkopie-Bild einer CIN III, eines CIS und eines invasiven Karzinoms | 16 |
| Abb. 9: Plattenepithelaufbau der Cervix uteri, H.E.-Färbung | 17 |
| Abb. 10: Histopathologische Epithelveränderungen in CIN I, CIN II und CIN III | 18 |
| Abb. 11: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips der OCT | 22 |
| Abb. 12: Veröffentlichungen wissenschaftlicher Arbeiten zur OCT in der Medizin..... | 25 |
| Abb. 13: Imalux Niris® TD-OCT-System, Bildschirm und Tastatur | 29 |
| Abb. 14-15: optische Sonde des Niris®Imaging System, sterile Einmalhülle..... | 31 |
| Abb. 16: Optisches System umgeben von der Schutzhülle | 32 |
| Abb. 17: Aufsetzen des Sonde auf die Portio mithilfe der sterilen Schutzhülle | 32 |
| Abb. 18: Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen..... | 35 |
| Abb. 19: In vivo TD-OCT von gesundem zervikalen Gewebe | 46 |
| Abb. 20: Histologisches Korrelat zu Abb.19; gesundes zervikales Plattenepithel..... | 47 |
| Abb. 21: OCT-Bilder: interindividuelle Dicken- und Signalintensitätsvarianzen | 47 |
| Abb. 22: Intraindividuelle Variabilität der Schichtdicke und der Signalintensität..... | 48 |
| Abb. 23: OCT-Darstellung am Übergang von Plattenepithel zu Zylinderepithel | 49 |
| Abb. 24: OCT-Bild am endozervikalen Übergang..... | 49 |
| Abb. 25: Links: Kolposkopisches Bild Grenze Zervikalkanal. Mitte: OCT-Bild ekto- endozervikaler Übergang. Rechts: Histologisches Korrelat Übergangszone..... | 50 |
| Abb. 26: Plattenepithel der Transformationszone in der Histologie und OCT | 51 |
| Abb. 27: Rand einer Läsion: Übergang Dysplasie/gesundes Epithel..... | 51 |
| Abb. 28: Bilder einer CIN I..... | 52 |
| Abb. 29: Bilder einer CIN II..... | 53 |
| Abb. 30: Bilder einer CIN III. | 54 |
| Abb. 31: Bilder eines invasiven Karzinoms | 54 |

| | |
|--|----|
| Abb. 32: OCT-Bilder des Übergangs von CIN III in Karzinom | 55 |
| Abb. 33: OCT-Bilder einer Entzündung und korrespondierende Histologie | 56 |
| Abb. 34: Benigne Veränderungen: OCT-Bilder mit korrelierenden Histologien | 56 |
| Abb. 35: Bilder einer Spongiose des Plattenepithels, OCT-Bild und Histologie..... | 57 |
| Abb. 36: Intensitätsprofil von normalem Plattenepithel..... | 57 |
| Abb. 37: Intensitätsprofil gesunden Plattenepithels, Einschluss eines Gefäßes..... | 58 |
| Abb. 38: Intensitätsprofil einer hochgradigen Dysplasie | 58 |
| Abb. 39: Intensitätsprofil eines invasiven Plattenepithelkarzinoms..... | 59 |

7. Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tab. 1: Nomenklaturen für Zervixdysplasien, Überblick..... | 8 |
| Tab. 2: Spontanverlauf der verschiedenen Dysplasiegrade..... | 9 |
| Tab. 3: Zellabstrich, Klassifikation II. Münchner Nomenklatur (1997) | 11 |
| Tab. 4: Gegenüberstellung Münchner Nomenklatur und Bethesda-Klassifikation..... | 12 |
| Tab. 5: Kolposkopie-Befundung | 15 |
| Tab. 6: Tabelle zur Errechnung von Sensitivität und Spezifität..... | 33 |
| Tab. 7: Zusammenhang zwischen Pap-Abstrich und gesicherten Dysplasien | 36 |
| Tab. 8: Kolposkopie-Ergebnisse im Vergleich zu den histopathologischen Befunden | 38 |
| Tab. 9: Kolposkopie-Ergebnisse im Vergleich zu den gestellten OCT-Diagnosen | 39 |
| Tab. 10: Ergebnisse der OCT im Vergleich zur Histopathologie: Unterscheidung gesund/benigne versus Dysplasie/Karzinom..... | 40 |
| Tab. 11: Tabellarische Übersicht der Läsionen im Bezug auf die Schichtung..... | 41 |
| Tab. 12: Befundung durch Erst- und Zweituntersucher: Cut off CIN II..... | 42 |
| Tab. 13: Befundung durch Erst- und Zweituntersucher: Cut off CIN III..... | 42 |
| Tab. 14: Kreuztabelle der genauen Real-Time-Befundung und der Zweitbefundung | 43 |
| Tab. 15: Übereinstimmung Erstbefunder und Zweitbefunder, Cohen's Kappa | 45 |
| Tab. 16: Ergebnisse der Publikation von Liu | 72 |

8. Literaturverzeichnis

- [1] WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Cancers in Germany. Summary Report 2009. World Health Organization 2009.
- [2] RKI, SB. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Gebärmuttererkrankungen. Themenheft 37. 16-2-2007. Robert Koch-Institut (RKI), Statistisches Bundesamt (SB), Berlin.
- [3] RKI, GEKID. Krebs in Deutschland 2003-2004, Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage, 58-62. 19-2-2008. Berlin, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister e.V. in Deutschland (GEKID), Robert Koch-Institut (RKI).
- [4] Schneider A, Dürst M et al. Epidemiologie, Ätiologie und Prävention des Zervixkarzinoms. Gynäkologe 1999; 32(4):247-260.
- [5] Hillemanns P. Uterusmalignome: Zervixkarzinom, Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumormanual der Projektgruppe Uterusmalignome (Projektleiter PD Dr. med. Ch. Dannecker) der TU und LMU München 2004; 3(ISBN: 978-3-88603-839-8).
- [6] Tumorregister München. Tumormanual 1999. Engel J, Schmidt M, Schubert-Fritschle G, Tretter W, Hölzel D. Zugschwerdt Verlag München. Internetzugriff am 20.12.2009:http://www.tumorregister-muenchen.de/annals/J1999/_____J199901320030222JB19991310.pdf
- [7] Schwartz SM, Weiss NS. Increased incidence of adenocarcinoma of the cervix in young women in the United States. Am J Epidemiol 1986; 124(6):1045-1047.
- [8] Schmidt-Matthiesen H, Wallwiener D. Gynäkologie und Geburtshilfe, Lehrbuch für Studium und Praxis. 10 ed. Stuttgart, New York: Schattauer, 2005. S. 387-401.
- [9] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348(6):518-527.
- [10] Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med 1998; 338(7):423-428.
- [11] Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. J Clin Virol 2005; 32 Suppl 1:S16-S24.
- [12] Kiechle M. Gynäkologie und Geburtshilfe. Chapter 30: Tumorartige Veränderungen und Tumoren. 1 ed. München-Jena: Elsevier GmbH, Urban&Fischer, 2007. S. 511-518.

- [13] Brinton LA, Tashima KT, Lehman HF, Levine RS, Mallin K, Savitz DA et al. Epidemiology of cervical cancer by cell type. *Cancer Res* 1987; 47(6):1706-1711.
- [14] Collins S, Rollason TP, Young LS, Woodman CB. Cigarette smoking is an independent risk factor for cervical intraepithelial neoplasia in young women: A longitudinal study. *Eur J Cancer* 2009.
- [15] Syrjanen K. New concepts on risk factors of HPV and novel screening strategies for cervical cancer precursors. *Eur J Gynaecol Oncol* 2008; 29(3):205-221.
- [16] Lacey JV, Jr., Brinton LA, Abbas FM, Barnes WA, Gravitt PE, Greenberg MD et al. Oral contraceptives as risk factors for cervical adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(12):1079-1085.
- [17] Stauber M, Weyerstahl T. *Gynäkologie und Geburtshilfe. Duale Reihe, MLP.* 3 ed. Stuttgart: Thieme, 2007. S. 232-240.
- [18] Böcker W, Denk H, Heitz PhU, Moch H. *Pathologie.* 4 ed. München-Jena: Elsevier GmbH, Urban&Fischer, 2008. S.954-963.
- [19] Richart RM. Influence of diagnostic and therapeutic procedures on the distribution of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1966; 19(11):1635-1638.
- [20] Richart RM. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1990; 75(1):131-133.
- [21] Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12(2):186-192.
- [22] Hillemanns P, Thaler C, et al. Epidemiologie und Diagnostik der zervikalen intraepithelialen Neoplasie - Ist das derzeitige Konzept von Screening und Diagnostik der CIN noch aktuell? *Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch* 1997; 37(4):179-191.
- [23] Schenck U, von Karsa L. Cervical cancer screening in Germany. *Eur J Cancer* 2000; 36(17):2221-2226.
- [24] Bundesärztekammer. Leitlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung zytologischer Untersuchungen zur Früherkennung des Zervixkarzinoms, 1994. Internetzugriff am 15.12.2009: <http://www.bundesaerztekammer.de/page.asp?his=0.7.46.3917>
- [25] Petry KU, Menton S, Menton M, Loenen-Frosch F, de Carvalho GH, Holz B et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003; 88(10):1570-1577.
- [26] McCrory DC, Matchar DB, Bastian L, Datta S, Hasselblad V, Hickey J et al. Evaluation of cervical cytology. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 1999;(5):1-6.
- [27] Baseman JG, Kulasingam SL, Harris TG, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C et al. Evaluation of primary cervical cancer screening with an oncogenic human papillomavirus DNA test and cervical cytologic findings among women who

- attended family planning clinics in the United States. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199(1):26-28.
- [28] Abulafia O, Pezzullo JC, Sherer DM. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. *Gynecol Oncol* 2003; 90(1):137-144.
- [29] Siebers AG, Klinkhamer PJ, Grefte JM, Massuger LF, Vedder JE, Beijers-Broos A et al. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 302(16):1757-1764.
- [30] Hall S, Lorincz A, Shah F, Sherman ME, Abbas F, Paull G et al. Human papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: correlation with cytologic and histologic diagnoses of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Gynecol Oncol* 1996; 62(3):353-359.
- [31] Wright TC, Jr., Lorincz A, Ferris DG, Richart RM, Ferenczy A, Mielzynska I et al. Reflex human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178(5):962-966.
- [32] Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the Management of Women with Cervical Cytological Abnormalities. *J Low Genit Tract Dis* 2002; 6(2):127-143.
- [33] Cuzick J, Szarewski A, Terry G, Ho L, Hanby A, Maddox P et al. Human papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995; 345(8964):1533-1536.
- [34] Reid R, Greenberg MD, Lorincz A, Jenson AB, Lavery CR, Husain M et al. Should cervical cytologic testing be augmented by cervicography or human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection? *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164(6 Pt 1):1461-1469.
- [35] Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998; 91(4):626-631.
- [36] Dalla PP, Giorgi RP, Collina G, Buccoliero AM, Ghiringhello B, Gilioli E et al. The reproducibility of CIN diagnoses among different pathologists: data from histology reviews from a multicenter randomized study. *Am J Clin Pathol* 2009; 132(1):125-132.
- [37] Orfanoudaki IM, Themelis GC, Sifakis SK, Fragouli DH, Panayiotides JG, Vazgiouraki EM et al. A clinical study of optical biopsy of the uterine cervix using a multispectral imaging system. *Gynecol Oncol* 2005; 96(1):119-131.
- [38] Schomacker KT, Meese TM, Jiang C, Abele CC, Dickson K, Sum ST et al. Novel optical detection system for in vivo identification and localization of cervical intraepithelial neoplasia. *J Biomed Opt* 2006; 11(3):34009.

- [39] Drezek RA, Richards-Kortum R, Brewer MA, Feld MS, Pitris C, Ferenczy A et al. Optical imaging of the cervix. *Cancer* 2003; 98(9 Suppl):2015-2027.
- [40] Tan J, Delaney P, McLaren WJ. Confocal endomicroscopy: a novel imaging technique for in vivo histology of cervical intraepithelial neoplasia. *Expert Rev Med Devices* 2007; 4(6):863-871.
- [41] Tan J, Quinn MA, Pyman JM, Delaney PM, McLaren WJ. Detection of cervical intraepithelial neoplasia in vivo using confocal endomicroscopy. *BJOG* 2009; 116(12):1663-1670.
- [42] Escobar PF, Belinson JL, White A, Shakhova NM, Feldchtein FI, Kareta MV et al. Diagnostic efficacy of optical coherence tomography in the management of preinvasive and invasive cancer of uterine cervix and vulva. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14(3):470-474.
- [43] Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254(5035):1178-1181.
- [44] Turchin IV, Sergeeva EA, Dolin LS, Kamensky VA, Shakhova NM, Richards-Kortum R. Novel algorithm of processing optical coherence tomography images for differentiation of biological tissue pathologies. *J Biomed Opt* 2005; 10(6):064024.
- [45] Fujimoto JG, Pitris C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia* 2000; 2(1-2):9-25.
- [46] Tadrous PJ. Methods for imaging the structure and function of living tissues and cells: 1. Optical coherence tomography. *J Pathol* 2000; 191(2):115-119.
- [47] Drexler W, Morgner U, Kartner FX, Pitris C, Boppart SA, Li XD et al. In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Opt Lett* 1999; 24(17):1221-1223.
- [48] Podoleanu AG. Optical coherence tomography. *Br J Radiol* 2005; 78(935):976-988.
- [49] Youngquist RC, Carr S, Davies DE. Optical coherence-domain reflectometry: a new optical evaluation technique. *Opt Lett* 1987; 12(3):158-160.
- [50] Fercher AF, Mengedoht K, Werner W. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Opt Lett* 1988; 13(3):186-188.
- [51] Drexler W, Fujimoto JG. State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2008; 27(1):45-88.
- [52] Cense B, Chen TC, Nassif N, Pierce MC, Yun SH, Park BH et al. Ultra-high speed and ultra-high resolution spectral-domain optical coherence tomography and optical Doppler tomography in ophthalmology. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 2006;(302):123-132.
- [53] Swanson EA, Izatt JA, Hee MR, Huang D, Lin CP, Schuman JS et al. In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Opt Lett* 1993; 18(21):1864-1866.

- [54] Fercher AF, Hitzenberger CK, Drexler W, Kamp G, Sattmann H. In vivo optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1993; 116(1):113-114.
- [55] Hermes B, Spoler F, Naami A, Bornemann J, Forst M, Grosse J et al. Visualization of the basement membrane zone of the bladder by optical coherence tomography: feasibility of noninvasive evaluation of tumor invasion. *Urology* 2008; 72(3):677-681.
- [56] Pitris C, Jesser C, Boppart SA, Stamper D, Brezinski ME, Fujimoto JG. Feasibility of optical coherence tomography for high-resolution imaging of human gastrointestinal tract malignancies. *J Gastroenterol* 2000; 35(2):87-92.
- [57] Westphal V, Rollins AM, Willis J, Sivak MV, Izatt JA. Correlation of endoscopic optical coherence tomography with histology in the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc* 2005; 61(4):537-546.
- [58] Testoni PA, Mangiavillano B. Optical coherence tomography in detection of dysplasia and cancer of the gastrointestinal tract and bilio-pancreatic ductal system. *World J Gastroenterol* 2008; 14(42):6444-6452.
- [59] Gambichler T, Moussa G, Sand M, Sand D, Altmeyer P, Hoffmann K. Applications of optical coherence tomography in dermatology. *J Dermatol Sci* 2005; 40(2):85-94.
- [60] Jorgensen TM, Tycho A, Mogensen M, Bjerring P, Jemec GB. Machine-learning classification of non-melanoma skin cancers from image features obtained by optical coherence tomography. *Skin Res Technol* 2008; 14(3):364-369.
- [61] Konig K, Speicher M, Buckle R, Reckfort J, McKenzie G, Welzel J et al. Clinical optical coherence tomography combined with multiphoton tomography of patients with skin diseases. *J Biophotonics* 2009; 2(6-7):389-397.
- [62] Korde VR, Bonnema GT, Xu W, Krishnamurthy C, Ranger-Moore J, Saboda K et al. Using optical coherence tomography to evaluate skin sun damage and precancer. *Lasers Surg Med* 2007; 39(9):687-695.
- [63] Sergeev A, Gelikonov V, Gelikonov G, Feldchtein F, Kuranov R, Gladkova N et al. In vivo endoscopic OCT imaging of precancer and cancer states of human mucosa. *Opt Express* 1997; 1(13):432-440.
- [64] Wang ZG, Lee C, Waltzer W, Yuan ZJ, Wu ZL, Xie HK et al. Optical coherence tomography for noninvasive diagnosis of epithelial cancers. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2006; 1:129-132.
- [65] Isenberg G, Sivak MV, Jr., Chak A, Wong RC, Willis JE, Wolf B et al. Accuracy of endoscopic optical coherence tomography in the detection of dysplasia in Barrett's esophagus: a prospective, double-blinded study. *Gastrointest Endosc* 2005; 62(6):825-831.
- [66] Ridgway JM, Ahuja G, Guo S, Su J, Mahmood U, Chen Z et al. Imaging of the pediatric airway using optical coherence tomography. *Laryngoscope* 2007; 117(12):2206-2212.

- [67] Coxson HO, Lam S. Quantitative assessment of the airway wall using computed tomography and optical coherence tomography. *Proc Am Thorac Soc* 2009; 6(5):439-443.
- [68] Armstrong WB, Ridgway JM, Vokes DE, Guo S, Perez J, Jackson RP et al. Optical coherence tomography of laryngeal cancer. *Laryngoscope* 2006; 116(7):1107-1113.
- [69] Kraft M, Glanz H, von Gerlach S, Wisweh H, Lubatschowski H, Arens C. Clinical value of optical coherence tomography in laryngology. *Head Neck* 2008; 30(12):1628-1635.
- [70] Wilder-Smith P, Lee K, Guo S, Zhang J, Osann K, Chen Z et al. In vivo diagnosis of oral dysplasia and malignancy using optical coherence tomography: preliminary studies in 50 patients. *Lasers Surg Med* 2009; 41(5):353-357.
- [71] Wong BJ, Jackson RP, Guo S, Ridgway JM, Mahmood U, Su J et al. In vivo optical coherence tomography of the human larynx: normative and benign pathology in 82 patients. *Laryngoscope* 2005; 115(11):1904-1911.
- [72] Goh AC, Tresser NJ, Shen SS, Lerner SP. Optical coherence tomography as an adjunct to white light cystoscopy for intravesical real-time imaging and staging of bladder cancer. *Urology* 2008; 72(1):133-137.
- [73] Lingley-Papadopoulos CA, Loew MH, Manyak MJ, Zara JM. Computer recognition of cancer in the urinary bladder using optical coherence tomography and texture analysis. *J Biomed Opt* 2008; 13(2):024003.
- [74] Brezinski ME. Optical coherence tomography for identifying unstable coronary plaque. *Int J Cardiol* 2006; 107(2):154-165.
- [75] Brezinski M. Characterizing arterial plaque with optical coherence tomography. *Curr Opin Cardiol* 2002; 17(6):648-655.
- [76] Habara M, Terashima M, Suzuki T. Detection of atherosclerotic progression with rupture of degenerated in-stent intima five years after bare-metal stent implantation using optical coherence tomography. *J Invasive Cardiol* 2009; 21(10):552-553.
- [77] Tearney GJ, Bouma BE, Boppart SA, Golubovic B, Swanson EA, Fujimoto JG. Rapid acquisition of in vivo biological images by use of optical coherence tomography. *Opt Lett* 1996; 21(17):1408-1410.
- [78] Boppart SA, Bouma BE, Pitris C, Southern JF, Brezinski ME, Fujimoto JG. In vivo cellular optical coherence tomography imaging. *Nat Med* 1998; 4(7):861-865.
- [79] Holmes J. OCT technology development: where are we now? A commercial perspective. *J Biophotonics* 2009; 2(6-7):347-352.
- [80] Fujimoto G, Izatt J.A, Tuchin VV. SPIE Conference Coherence Domain Optical Methods and Optical Coherence Tomography in Biomedicine XIII. editors 7168 [pp. 71680E 1-7], 2009. San Jose CA, USA. Internetzugriff am 15.12.2009: <http://spie.org/bios.xml>

-
- [81] Escobar PF, Rojas-Espaillet L, Tisci S, Enerson C, Brainard J, Smith J et al. Optical coherence tomography as a diagnostic aid to visual inspection and colposcopy for preinvasive and invasive cancer of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16(5):1815-1822.
- [82] Bazant-Hegemark F, Edey K, Swingler GR, Read MD, Stone N. Review: optical micrometer resolution scanning for non-invasive grading of precancer in the human uterine cervix. *Technol Cancer Res Treat* 2008; 7(6):483-496.
- [83] Pitris C, Goodman A, Boppart SA, Libus JJ, Fujimoto JG, Brezinski ME. High-resolution imaging of gynecologic neoplasms using optical coherence tomography. *Obstet Gynecol* 1999; 93(1):135-139.
- [84] Escobar PF, Rojas-Espaillet L, Belinson JL. Optical diagnosis of cervical dysplasia. *Int J Gynaecol Obstet* 2005; 89(1):63-64.
- [85] Liu Z, Belinson SE, Li J, Yang B, Wulan N, Tresser NJ et al. Diagnostic efficacy of real-time optical coherence tomography in the management of preinvasive and invasive neoplasia of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20(2):283-287.
- [86] Zuluaga AF, Follen M, Boiko I, Malpica A, Richards-Kortum R. Optical coherence tomography: a pilot study of a new imaging technique for noninvasive examination of cervical tissue. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(1):83-88.
- [87] Vincent KL, Bell BA, Rosenthal SL, Stanberry LR, Bourne N, Sweeney YT et al. Application of optical coherence tomography for monitoring changes in cervicovaginal epithelial morphology in macaques: potential for assessment of microbicide safety. *Sex Transm Dis* 2008; 35(3):269-275.
- [88] Cauberg EC, de Bruin DM, Faber DJ, van Leeuwen TG, de la Rosette JJ, de Reijke TM. A new generation of optical diagnostics for bladder cancer: technology, diagnostic accuracy, and future applications. *Eur Urol* 2009; 56(2):287-296.

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir durch ihre Unterstützung die Erstellung dieser Arbeit ermöglichten.

Ein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Klaus Friese, dem Direktor der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, für die Ermöglichung dieser wissenschaftlichen Arbeit in der Frauenpoliklinik im Klinikum Großhadern.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Christian Dannecker für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und für die ausdauernde Unterstützung und kompetente Betreuung. Ohne ihn hätten die Untersuchungen für diese Studie nicht stattfinden können.

Meiner Betreuerin Frau Dr. med. Julia Gallwas möchte ich ganz besonders danken für ihr Vertrauen, für ihre Geduld, für die stets tatkräftige Unterstützung, für die vielen wichtigen Anregungen und die überaus engagierte Betreuung von Anfang bis zum Ende dieser Arbeit. Ein großes Dankeschön für die große Hilfe bei der Ausarbeitung der Dissertation.

Ein besonderer Dank geht an Herrn Dr. Herbert Stepp, dem wissenschaftlichen Mitarbeiter des Laser-Forschungslabors, der mir zu jedem Zeitpunkt meiner Arbeit nicht nur in physikalischen und technischen Fragen zur Seite stand. Ein großer Dank für die vermittelnde Funktion, die eine gute Zusammenarbeit mit Imalux Corporation ermöglichte.

An dieser Stelle gilt ein Dankeschön auch Frau Nancy J. Tresser, Vice President und Chief Medical Officer der Firma Imalux Corporation in Cleveland, Ohio, für die Bereitstellung des OCT-Gerätes und für die gute Zusammenarbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. med. Susanna Müller, die mir als Pathologin in sämtlichen feingeweblichen Fragen Hilfe leistete und die Arbeit durch wertvolle Bildbeiträge unterstützte.

Allen Krankenschwestern und Mitarbeitern der Frauenpoliklinik ein Dankeschön für die Geduld und für das stets angenehme Arbeitsumfeld. Ein Dank auch an die Sekretärinnen des Pathologischen Instituts, die mich bei der Datenerhebung unterstützten.

Nicht zuletzt allen Patientinnen, die an der Studie teilgenommen haben, ein großes Dankeschön.

Ein besonders herzlicher Dank gilt meiner Familie, die mir mein Studium ermöglichen und mich in allem unterstützen.