

Aus dem Institut für Klinische Radiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Optische Kohärenztomographie im Ureter:
Intraluminale Anwendung einer hochauflösenden
Bildgebungsmethode im *ex vivo* Modell

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

vorgelegt von
Margit Andrea Bauer
aus
Rosenheim

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Ullrich Müller-Lisse

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Oliver Reich
Prof. Dr. Rolf Muschter

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: -----

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

Tag der mündlichen Prüfung: 17.06.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Fragestellung und Zielsetzung	8
3	Anatomie des oberen Harntraktes	9
4	Technische Grundlagen	10
4.1	Messung der Signalverzögerungszeit als Grundlage der Ultraschallsonographie und der optischen Kohärenztomographie (OCT)	10
4.2	Ultraschallsonographie	11
4.2.1	Funktionsweise der Ultraschallsonographie	11
4.2.2	Endoluminale Ultraschallsonographie	12
4.3	Funktionsweise der OCT	13
4.3.1	Physikalische Grundlagen der Interferometrie	13
4.3.2	Michelson-Interferometer	15
4.3.3	Lichtquelle.....	17
4.3.4	Technische Umsetzung im OCT-Gerät.....	18
5	Material und Methoden	20
5.1	Geräte	20
5.1.1	OCT- Gerät	20
5.1.2	Endoluminales Ultraschall-Gerät (ELUS)	21
5.1.3	Digitale Lichtmikroskopie.....	21
5.2	Untersuchungsmaterial	22
5.3	Experimente	23
5.3.1	Versuchsaufbau	23
5.3.2	Versuchsdurchführung zur deskriptiven, quantitativen und morphometrischen Analyse	26
5.3.3	Versuchsdurchführung zum Vergleich OCT versus ELUS	28
5.4	Auswertung	30
5.4.1	Quantitative Analyse	30
5.4.2	Morphometrische Untersuchung	30
5.4.3	Auswertung OCT versus ELUS	32
6	Ergebnisse	33
6.1	Deskriptive Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie	33
6.2	Quantitativer Vergleich: OCT und Lichtmikroskopie	35

6.3	Morphometrische Untersuchung	37
6.4	Quantitative Analyse: OCT und ELUS.....	43
7	Diskussion	45
7.1	Diskussion der Ergebnisse.....	46
7.1.1	Deskriptive Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie	46
7.1.2	Quantitative Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie.....	46
7.1.3	Morphometrische Untersuchung	48
7.1.4	Quantitativer Vergleich: OCT und ELUS	50
7.2	Limitationen der OCT	52
7.3	Schlussfolgerungen	53
8	Zusammenfassung.....	55
9	Anhang.....	57
10	Abkürzungsverzeichnis	62
11	Abbildungsverzeichnis	63
12	Tabellenverzeichnis.....	63
13	Literatur.....	64
14	Danksagung.....	72
15	Publikationen und Kongressbeiträge.....	70
16	Lebenslauf	73

1 Einleitung

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist eine neue optische Bildgebungsmethode, die in den 1990er Jahren entwickelt wurde. Diese Technik ermöglicht die Aufzeichnung hochaufgelöster Querschnittsbilder der Gewebemikrostruktur *in vivo* in Echtzeit [18]. Die typische räumliche Auflösung der erzeugten Bilder liegt im Bereich von 10-20 μm [89] und ist damit der niedrig aufgelösten Lichtmikroskopie (Vergrößerungsstufe etwa 20-100-fach) vergleichbar.

OCT-Bilder können in Echtzeit aufgenommen und wiedergegeben werden, insoweit ähnelt die Methode dem endoluminalen Ultraschall (ELUS). Die OCT übertrifft allerdings das Auflösungsvermögen des ELUS um eine Zehnerpotenz [13, 45]. Im Unterschied zum ELUS wird das zwei- und dreidimensionale OCT-Bildmaterial durch kohärentes Licht des nahen Infrarot Bereichs („near-infra-red light“, NIR, Wellenlänge 800-1400 nm) erzeugt, dessen Reflektion vom biologischen Untersuchungsmaterial nach Stärke des Signals und Zeit von der Ausstrahlung bis zur Signalrückkehr ausgewertet wird [62]. Wird der Lichtstrahl innerhalb der OCT-Messsonde entlang der Längsachse rotiert, erhält man zweidimensionales Bildmaterial [76]. Durch Änderung der Messsonden-Position entlang der Längsachse (Messsonden-Rückzug) wird die dritte räumliche Dimension erschlossen.

Die OCT hat ihre Ursprünge in der ‚optical coherence-domain reflectometry‘, einer eindimensionalen Messmethode zum Aufspüren von Fehlern in fiberoptischen Netzwerken [93]. Erstmals demonstrierten Huang et al. 1991 die Anwendung der OCT zur Erzeugung von Schnittbildern der Retina und von Koronararterien als Beispiele für transparente und nicht-transparente Medien [41]. Seitdem entwickelte sich die OCT vor allem in der Ophthalmologie im Bereich der Netzhaut- und Glaukomdiagnostik zu einer Schlüsseltechnologie [17, 93]. Seit der Entwicklung intravaskulär anwendbarer, rotierender Sonden findet die OCT zunehmend auch Verwendung in der Kardiologie, insbesondere bei der Lokalisierung vulnerabler Plaques, der Beurteilung ihrer Zusammensetzung und ihrer Rupturwahrscheinlichkeit [56, 78], sowie zur Führung kardialer Interventionen, wie perkutaner Koronarinterventionen und Stentimplantationen [11, 46, 93]. Die Anwendbarkeit der OCT im Rahmen muskuloskelettaler Erkrankungen sowie von Zahnerkrankungen wird derzeit untersucht [22, 52, 88]. Seit einiger Zeit wird die OCT auch bei onkologischen Fragestellungen eingesetzt: bei der Untersuchung der Brustdrüsen [9, 57, 92], des Gehirns [7, 44], der Haut [16, 85, 86], des Gastrointestinaltraktes [12, 14, 15, 43, 66, 67, 71, 74, 75], des HNO-Bereiches [1, 58, 69, 72, 87], des Respirationstraktes [50, 79] und des Urogenitaltraktes [8, 19, 47, 54, 59, 63, 64, 83, 91].

Im Bereich des Urogenitaltraktes standen bisher Untersuchungen der Harnblase im Vordergrund, um die Eindringtiefe von Transitionalzellkarzinomen und deren Vorstufen nachzuweisen [47, 54, 91]. Es konnte gezeigt werden, dass das normale Urothel der Harnblase sich mit seinen verschiedenen Schichten darstellen lässt, während pathologische Veränderungen mit einem Verlust dieser spezifischen Schichtung einhergehen [91]. Auch bei Untersuchungen von Prostatagewebe ließen sich Zellschichten unterscheiden [8, 18]. OCT-Studien des oberen Harntraktes beschränkten sich bisher auf Untersuchungen post mortem gewonnener humaner Gewebeproben des Harnleiters, die nach Fixierung auf einem Objektträger mittels Auflicht-OCT bei einer Scanzeit von 45 s/ Scan abgetastet wurden [76].

Darstellung und Differenzierung der verschiedenen Wandschichten des Harntraktes sind für die Tumordiagnostik und -therapie von großer Bedeutung. Eine Unterscheidung von Urothel, Basalmembran, Lamina propria und Tunica muscularis ist mittels der aktuell verfügbaren radiologischen Schnittbildverfahren nicht möglich [19]. Die nicht invasiven Bildgebungsverfahren (MRT, CT) erlauben zwar einen guten Überblick über die Anatomie des oberen Harntraktes und seiner Anhangsgewebe und haben eine hohe Sensitivität bei der Detektion auch kleiner maligner Veränderungen des oberen Harntraktes bis 5 mm Durchmesser. Sie sind aber nicht in der Lage, verlässlich die Harnleiterwandschichten zu beschreiben oder histopathologische Veränderungen wie entzündliche/fibrotische Läsionen von Tumoren zu unterscheiden [42].

Mit invasiven Untersuchungstechniken wie der retrograden Ureteropyelographie sowie der Ureterorenoskopie kann man zwar intraluminale Veränderungen des oberen Harntraktes erkennen, jedoch ist zur weiteren Differenzierung und Beurteilung der Ausdehnung einer Läsion eine Biopsieentnahme nötig [42]. Es besteht daher eine diagnostische Lücke zwischen den nicht invasiven radiologischen Bildgebungsverfahren des Harntraktes (wie CT, MRT und transkutanem Ultraschall) und den invasiven Bildgebungsverfahren. Mit der Entwicklung miniaturisierter Schallköpfe entstand mit dem endoluminalen Ultraschall (ELUS) eine viel versprechende Technik, um diese Lücke zu schließen [62]. ELUS wurde in der Urologie verwendet, um Kollageneinspritzungen zu steuern, Harnleiterdivertikel und intramukosale Steine zu diagnostizieren, Übergangszelltumoren des oberen Harntraktes nachzuweisen und deren Eindringtiefe ins Gewebe zu bestimmen, Blutgefäße vor Harnleiterschlitzen zu detektieren, sowie den Schweregrad und die Länge von Harnleiterstrikturen zu evaluieren [51]. Bisher für urologische Fragestellungen verwendete ELUS-Systeme arbeiten mit Frequenzen von 12,5 bis 40 MHz, die eine räumliche Eindringtiefe von etwa 2,0 cm bis 5-10 mm erlauben [51, 90]. Zur Zeit konnte noch nicht gezeigt werden, dass es mithilfe des ELUS möglich ist, sicher einzelne Schichten der Harnleiterwand zu differenzieren, wie es für die Tumordiagnostik zu fordern wäre.

Mittlerweile stehen intraluminale OCT-Geräte zur Verfügung, welche eine räumliche Auflösung im Bereich von 4-20 μm bei einer Eindringtiefe von 2 mm im optisch streuenden Gewebe [40] erreichen und damit in der Lage sein sollten, sicher einzelne Schichten der Harnleiterwand auch *in vivo* zu unterscheiden. Vor einer möglichen Erprobung am Menschen muss die Anwendbarkeit der OCT im Harnleiter zunächst *ex vivo* getestet werden.

2 Fragestellung und Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit umfasst erste Studien zur Anwendbarkeit der OCT im Harnleiter in einem *ex-vivo*-Modell. Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

Ist es möglich, an Schweineharnleitern *ex vivo* mit einem intraluminalen OCT-Gerät zweidimensionale Schnittbilder der Harnleiterwand zu erzeugen, die eine sichere Unterscheidung der verschiedenen Zellschichten zulassen (Urothelschicht/ Lamina propria/ innere und äußere Muskelschicht/ eventuell einzelne Zellen der Urothelschicht)?

Ist es möglich, an Schweineharnleitern *ex vivo* die Schichtdicke der verschiedenen Zellschichten anhand der aufgezeichneten OCT-Bilder verlässlich zu bestimmen und besteht eine Übereinstimmung mit den Messwerten an niedrig aufgelösten lichtmikroskopischen Bildern?

Falls eine Unterscheidung verschiedener Wandschichten an Schweineharnleitern mittels intraluminaler OCT möglich ist, ergibt sich ein Vorteil für die OCT im Vergleich zum endoluminalen Ultraschall?

3 Anatomie des oberen Harntraktes

Die ableitenden Harnwege bilden in morphologischer, funktioneller und klinischer Hinsicht eine Einheit und bestehen aus Nierenbecken (Pelvis renalis/ Pyelon), Harnleiter (Ureter), Harnblase (Vesica urinaria) und Harnröhre (Urethra). Die Wand der ableitenden Harnwege besteht aus einer Schleimhaut (Tunica mucosa) mit Übergangsepithel (Urothel, (U)), einem subepithelialen Schleimhautbindegewebe (Lamina propria, (Lp)), einer Muskelschicht (Tunica muscularis, (M)), die aus glatter Muskulatur aufgebaut ist, und einer äußeren Bindegewebsschicht (Tunica adventitia, (A)).

Üblicherweise sind die Harnleiter des Erwachsenen ca. 20-30 cm lang und 5-7 mm dick. Der Harnleiter geht kontinuierlich aus dem Nierenbecken hervor und mündet in die Harnblase. Sein Lumen ist bei kontrahierter Muskulatur sternförmig. Das Urothel besteht aus 4-6 Zellreihen, wobei alle Zellen auf der Basallamina verankert sind. Diese stellt eine Barriere zur Lamina propria dar. Die Muskelschicht besteht im wesentlichen aus flach oder steil verlaufenden spiralig angeordneten Bündeln glatter Muskelzellen, die sich im oberen Teil des Harnleiters außen zu einer kräftigen Ringmuskelschicht und innen zu einer schmäleren Längsmuskelschicht anordnen [5, 84].

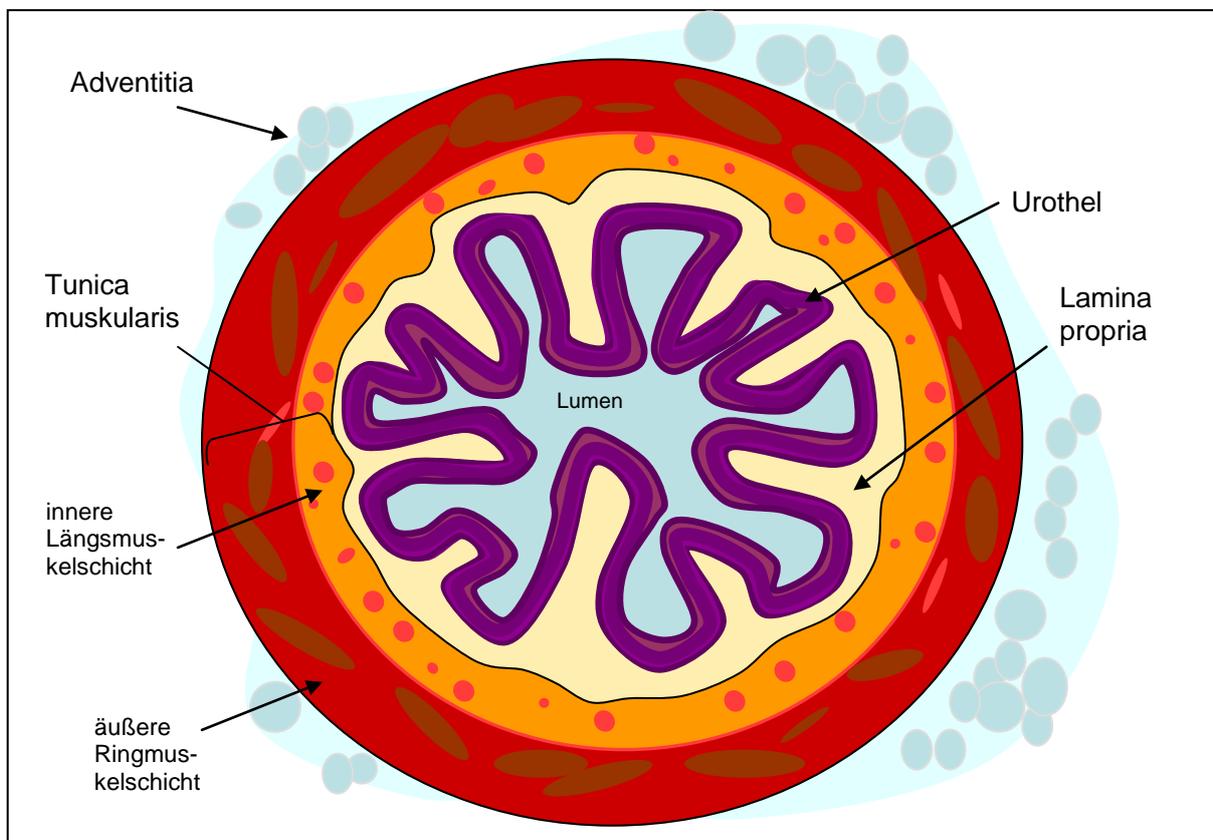


Abb. 1 Schema eines histologischen Querschnitts durch einen Harnleiter

4 Technische Grundlagen

4.1 Messung der Signalverzögerungszeit als Grundlage der Ultraschographie und der optischen Kohärenztomographie (OCT)

Das Prinzip der Messung der Signalverzögerungszeit von Wellen wird für eine Vielzahl von tomographischen und topographischen Verfahren eingesetzt, wie z.B. bei Radarmessungen, dem diagnostischen Ultraschall und der OCT [13]. Dabei ist das Funktionsprinzip für alle verwendeten Strahlungen, Wellenlängen und Energien ähnlich. Von einem Sender wird ein kurzer Wellenzug erzeugt. Der Wellenzug trifft auf die zu untersuchende Probe. An Grenzflächen zwischen Strukturen mit unterschiedlichen Laufeigenschaften für die jeweiligen Wellen kommt es jeweils zu Streuung, Brechung, Reflektion oder Absorption.

Die Eindringtiefe in das zu untersuchende Gewebe ist dabei abhängig von der Wellenlänge der verwendeten Strahlung. Je langwelliger, also niedrigerfrequenter, die Wellenzüge sind, desto höher ist die Eindringtiefe. Die durch Reflektion oder Streuung zurückgestrahlten Wellenzüge werden mithilfe eines Detektors aufgezeichnet. Je tiefer diese Wellenzüge dabei in das Gewebe bis zur Reflektion vorgedrungen sind, desto länger ist die Zeitspanne, die von ihrer Aussendung bis zur Detektion vergeht (Signalverzögerungszeit, echo delay time).

Die Intensität des Wellenzugs in Abhängigkeit von seiner Signalverzögerungszeit gibt so Auskunft über die innere Struktur der untersuchten Probe. Die mögliche maximal erreichbare axiale Auflösung des jeweiligen Bildgebungsverfahrens verhält sich dabei umgekehrt proportional zur spektralen Bandbreite der eingestrahlten Wellen und zur Wellenlänge der verwendeten Strahlungsquelle [37].

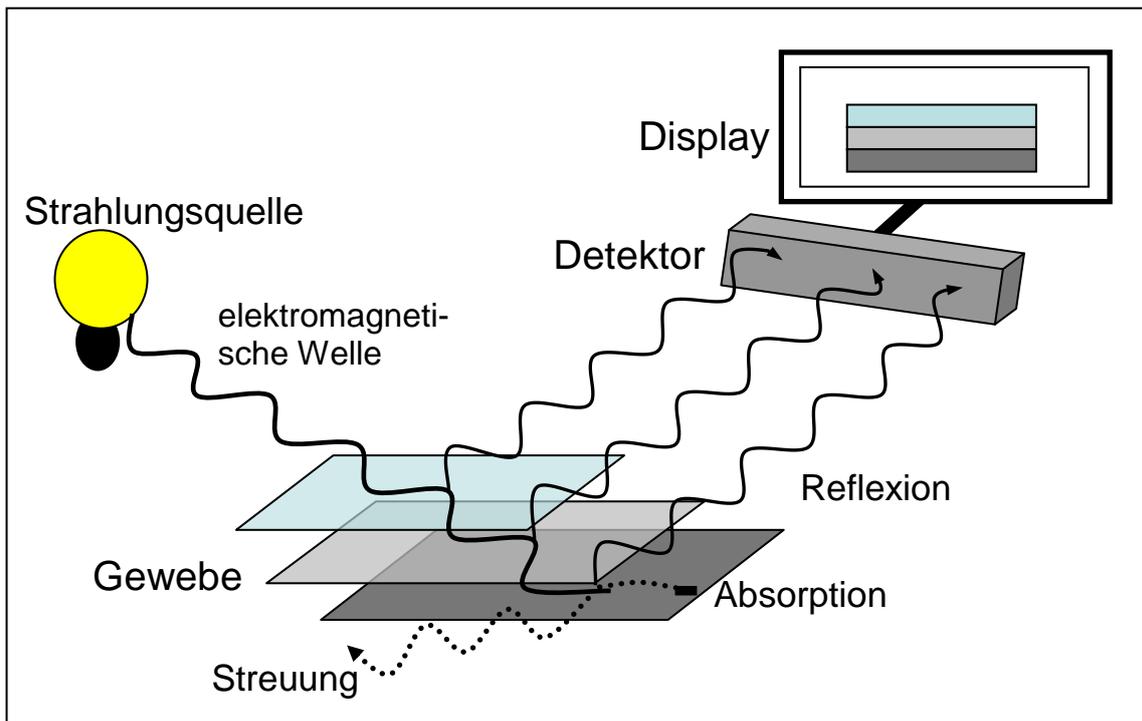


Abb. 2 Graphische Darstellung des Prinzips der Messung der Signalverzögerungszeit. Es kommt zu Reflexion, Streuung und Absorption von elektromagnetischen Wellen in den unterschiedlichen Schichten des zu untersuchenden Gewebes.

4.2 Ultrasonographie

Der konventionelle Ultraschall ist in der Urologie ein wertvolles diagnostisches Werkzeug, da er nicht invasiv, sicher und relativ kostengünstig durchzuführen ist [68].

4.2.1 Funktionsweise der Ultrasonographie

Zur Erzeugung von Ultraschallwellen verwendet man polar gebaute Kristalle, wie etwa Bariumtitanat oder Bleizirkonat, die nach Anlegen einer Wechselspannung aufgrund ihrer piezoelektrischen Eigenschaften zu Schwingungen angeregt werden. Diese Schwingungen gibt der Kristall als Ultraschallwellen an das umgebende Medium ab, wo diese sich weiter wellenförmig ausbreiten. Umgekehrt werden auftreffende Ultraschallwellen durch mechanische Verformung des Kristalls in elektrische Ladungen umgewandelt, welche gemessen werden können. Damit ist es möglich, dass ein Kristall gleichzeitig als Sender und Empfänger dient.

Bei der B-Bild-Sonographie (B= Brightness) wird durch einen entsprechenden Schallimpuls und dem darauf folgenden empfangenen Echo ein Bild erzeugt. Zunächst wird ein kurzer Schallimpuls gesendet (zwei Schwingungsperioden). Anschließend wird auf Empfang geschaltet und das Echo abgewartet. Bei einer typischen Sendefrequenz von 5,0 MHz entspricht die Sendedauer 0,4 μ s. Bei einer mittleren Schallgeschwindigkeit von 1540 m/s und einer maximalen vorgesehenen Eindringtiefe von 10 cm kommt das letzte Echo nach etwa 0,125 ms wieder zum Empfänger zurück. Es folgt der nächste Schallimpuls. Der Kristall steht also ca. 99% der Zeit auf Empfang und nur einen Bruchteil der Zeit auf Sendung. Im B-Bild-Verfahren wird das empfangene Echo nach entsprechender Digitalisierung einer Grauwertskala zugeordnet und als Punkt auf dem Bildschirm dargestellt. Dieser ist um so heller, je stärker das empfangene Signal ist, und liegt auf dem Bildschirm umso tiefer, je später das empfangene Signal eintrifft. [68].

4.2.2 Endoluminale Ultrasonographie

Besonders oft werden transkutane Ultraschalluntersuchungen bei Verdacht auf Harnstauungsnieren, einer Raumforderung oder einem Steinleiden [51] der Niere sowie der Harnblase durchgeführt. Der Harnleiter ist für die Untersuchung mittels transabdominell Ultraschall ungeeignet, da er nicht in seinem gesamten Verlauf sicher dargestellt werden kann, insbesondere, wenn er ein normales Kaliber hat [42].

Beim endoluminalen Ultraschall (ELUS) wird ein flexibler Katheter mit einem miniaturisierten Hochfrequenz-Schallkopf endoskopisch in ein Lumen eingeführt, um z.B. die Harnröhre, den Harnleiter oder das Nierenbecken zu untersuchen [49]. Die Technik bei intraluminaler Anwendung unterscheidet sich dabei bis auf die Größe und Form der verwendeten Systeme nicht wesentlich vom konventionellen Ultraschall. Werden die Trägerkatheter an ein rotierendes System angeschlossen, ist es möglich, tomographische Bilder des untersuchten Hohlorgans zu erhalten.

Der ELUS nutzt dabei üblicherweise Ultraschallwellen in einem Frequenzbereich von 12,5 bis 20 MHz, zur Untersuchung von oberflächlichen Karzinomen können auch höhere Frequenzen sinnvoll sein [40, 49, 51]. Der 20 MHz-Schallkopf erlaubt eine axiale Auflösung von 0,1 mm und eine maximale Eindringtiefe von 15-20 mm, eine niedrigere Frequenz geht mit einer geringeren axialen Auflösung und einer höheren Eindringtiefe einher [42], während experimentelle Systeme mit Frequenzen von bis zu 50 MHz eine räumliche Eindringtiefe von etwa 4 mm und eine axiale Auflösung von bis zu 40 μ m erlauben [21, 51, 90]. Während der intravaskuläre Ultraschall aufgrund seiner hohen Inter- und Intraobservervalidität bei der Diagnostik von Koronararterien [6] und der Führung von z.B. Stentimplantationen [23] mitt-

lerweile gut etabliert ist, ist die Erfahrung mit der Anwendung des ELUS in der Diagnostik des oberen Harntrakts noch gering [42]. Studien im oberen Harntrakt konzentrierten sich bisher hauptsächlich auf die Abklärung von Harnleiterstrikturen und -abgangsstenosen sowie die Identifikation von kreuzenden Gefäßen im Operationsbereich bei endoskopischen Harnleiterschlitzen [3, 4, 51, 53], wobei ELUS dabei der Spiral CT überlegen scheint [38]. Weitere Studien erprobten die Anwendung des ELUS bei der Diagnostik von submukosalen Harnleitersteinen [30, 31, 51]. Liu et al. konnten zeigen, dass ELUS geeignet ist, Biopsieentnahmen und endoskopische Therapien bei Tumoren im Harnleiter zu leiten und in manchen Fällen deren Invasionsstadium zu bestimmen [55].

4.3 Funktionsweise der OCT

Die maximal erreichbare räumliche Auflösung hängt unter anderem von der Wellenlänge der verwendeten Strahlung ab. Der entscheidende Unterschied zwischen der Bildgebung mit akustischen oder optischen Wellen liegt dabei in der Geschwindigkeit des Lichts (ungefähr 3×10^8 m/s in Vakuum), welche die des Schalls etwa um den Faktor 10^6 [76] übertrifft (Geschwindigkeit von Schall in Wasser ungefähr 1500 m/s) [68]. Die OCT sendet Lichtwellen aus und erreicht so eine räumliche Auflösung von wenigen Mikrometern.

Eine elektronische Auswertung der Signalverzögerungszeit würde bei der verwendeten Wellenlänge eine zeitliche Auflösung von etwa 30 fs voraussetzen. Diese zeitliche Auflösung kann nicht mit einem technischen Messgerät umgesetzt werden. Als Messmethode greift die OCT auf die bereits von Isaac Newton beschriebene Niedrigkohärenz- oder Weißlichttomographie zurück. Die OCT misst die Zeit der Signalverzögerung, indem sie das Lichtsignal, das in dem Gewebe reflektiert wurde, mit einem Referenzlichtstrahl vergleicht, der eine bekannte Wegstrecke in der gleichen Zeit zurückgelegt hat. Sie misst dabei eher das elektrische Feld des Lichtstrahls denn seine Intensität [24]. Die OCT verwendet hierzu ein abgewandeltes Michelson-Interferometer, wobei die Fähigkeit des Lichts zur Interferenz und Kohärenz genutzt wird [13]. Diese physikalischen Begriffe sollen im Folgenden zunächst geklärt werden.

4.3.1 Physikalische Grundlagen der Interferometrie

Nach der Theorie der Quantenelektrodynamik ist Licht ein quantenmechanisches System, ein Strom von Photonen. Dabei steht in Grenzfällen mal sein Teilchencharakter, mal sein

Wellencharakter im Vordergrund. Licht als elektromagnetische Welle breitet sich transversal aus und schwingt dabei senkrecht zur Ausbreitungsrichtung. Die einfachste annehmbare Form ist die harmonische Welle, eine Sinuswelle [32, 36, 81, 82].

Interferenz

Interferenzerscheinungen lassen sich makroskopisch z.B. anhand von Oberflächenwellen in einem Wasserbecken leicht beobachten. Betrachtet man eine solche Welle in einer Momentaufnahme von oben, ergibt sich ein Wechsel von Wellenbergen und Wellentälern. Der Abstand von Wellenberg zu Wellenberg, wie von Wellental zu Wellental, entspricht der Wellenlänge. Führt man in dieses Modell eine zweite Welle gleicher Phase ein, interagieren die beiden Wellen in typischer Weise miteinander. Durch die Überlagerung können Gebiete entstehen, in denen zwei (oder mehr) Wellen überlappen und einander dabei teilweise oder sogar vollständig auslöschen. In anderen Gebieten können die Täler und Berge dagegen deutlicher zutage treten als die der einzelnen Wellen. Nach der Überlagerung können sich die Wellen trennen und weiter ausbreiten, ohne von der vorausgegangenen Begegnung beeinflusst worden zu sein. Beträgt die Phasendifferenz der beiden Lichtwellen ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge, verstärken sich die beiden Wellen, man spricht von konstruktiver Interferenz. Ist der Gangunterschied der beiden Wellen ein ungeradzahliges Vielfaches der halben Wellenlänge, so löschen sich diese aus, man spricht von destruktiver Interferenz. Entsprechend versteht man unter optischer Interferenz die Wechselwirkung zweier oder mehrerer Lichtquellen, die eine resultierende Bestrahlungsstärke ergeben, die sich von der Summe der einzelnen Bestrahlungsstärken unterscheidet [82]. Die Voraussetzung für jedes Interferenzphänomen ist dabei die Kohärenz der verwendeten Lichtwellenzüge [35, 82].

Kohärenz

Damit zwei oder mehrere Lichtwellen geordnete und statische Interferenzerscheinungen erzeugen können, müssen sie kohärent sein, d.h. sie müssen in einer festen Phasenbeziehung stehen. In der Realität ist rein kohärentes oder rein inkohärentes Licht nicht existent. Thomas Young hatte in seinem Doppelspaltversuch gezeigt, dass sich unter gewissen Voraussetzungen auch bei gemeinhin als inkohärent betrachteten Lichtquellen, wie der Sonne, Interferenzerscheinungen beobachten lassen. Diese Bedingungen beschreibt die Teilkohärenz. Da die spontan emittierten Lichtwellen zweier Lichtquellen von verschiedenen, unabhängig voneinander zur Anregung gebrachten Atomen stammen, ist es quasi unmöglich, dass zwischen den auf diese Weise entstandenen Lichtwellenzügen eine feste Phasenbe-

ziehung besteht. Bei in Näherung monochromatischem Licht, z.B. dem einer Natriumdampflampe, setzen sich die Wellenzüge aus wenigen Frequenzkomponenten zusammen, auf die sich die Energie verteilt. Es lassen sich Spektrallinien beobachten, wobei jede Spektrallinie statt einer Frequenz eine Frequenzbandbreite darstellt. Laserlicht kommt dem idealen klassischen Sinuswellenzug mit genau definierter Frequenz und zu jedem Zeitpunkt festgelegter Amplitude recht nahe. Aber auch bei dieser Lichtquelle verursachen einzelne Atome Störungen im Gleichtakt, welche sich addieren und nach einer gewissen Zeit den realen Sinuswellenzug gegen den idealen Wellenzug verschieben. Die Zeit, nach der diese Verschiebung eine halbe Wellenlänge ausmacht, nennt man Kohärenzzeit. Sie entspricht dem Kehrwert der Frequenzbandbreite. Multipliziert man die Kohärenzzeit mit der Lichtgeschwindigkeit, ergibt sich die Länge des ungestörten Wellenzugs, die Kohärenzlänge. Die Kohärenzlänge ist diejenige Länge im Raum, in der die Welle die Sinusform annimmt, sodass man ihre Phase exakt angeben kann. Die Kohärenzlänge ist dabei analog der Impulsdauer bei der Messung der Signalverzögerungszeit [76] bei der Ultrasonographie. Klassisch kann die Kohärenzzeit einer Lichtquelle mit Hilfe eines Michelson-Interferometers bestimmt werden. Von den zeitlichen Kohärenzeffekten lassen sich zweckmäßig räumliche Kohärenzeffekte abgrenzen. Von zeitlicher Kohärenz spricht man bei einer begrenzten Bandbreite der Lichtquelle (und damit einer endlichen Kohärenzzeit), von räumlicher Kohärenz bei einer räumlichen Beschränkung der Lichtquelle. Befinden sich zu einem bestimmten Zeitpunkt zwei Punkte nebeneinander auf derselben Wellenfront, so bezeichnet man die Felder in diesen Punkten als räumlich kohärent [34, 35, 82].

4.3.2 Michelson-Interferometer

Es existiert eine Vielzahl optischer Systeme zur Interferenzzeugung. Man teilt sie in zwei Untergruppen: Wellenfrontspaltende und amplitudenspaltende Geräte. Im Falle amplitudenspaltender Geräte wird die primäre Welle selbst in zwei Segmente unterteilt, die unterschiedliche Wege durchlaufen, bevor sie wieder zusammenlaufen und interferieren. Ein Beispiel eines amplitudenspaltenden Interferometers ist das von dem amerikanischen Physiker Albert A. Michelson entwickelte Michelson-Interferometer [33]. Ursprünglich zur Messung von Wellenlängen entwickelt, fand es u.a. Verwendung als Grundbaustein eines OCT- Gerätes.

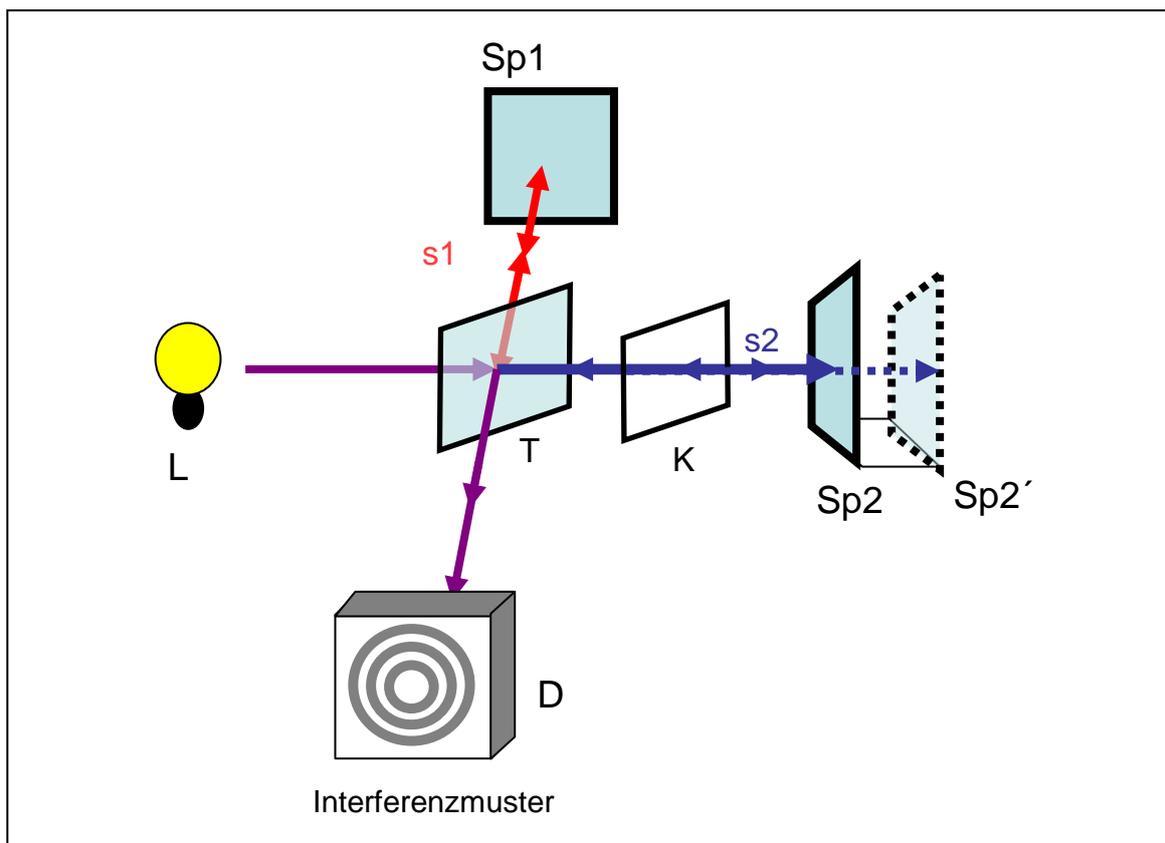


Abb. 3 Schematischer Aufbau eines Michelson-Interferometers (Erklärung im Text)

Von einer Lichtquelle (L) wird ein Lichtstrahl auf einen Strahlteiler gelenkt. Dieser ist z.B. ein halbdurchlässiger Spiegel (T), der den Lichtstrahl zur Hälfte im 90° -Winkel reflektiert, zur Hälfte transmittiert. Jeder dieser beiden Lichtstrahlen durchläuft jeweils einen bestimmten Lichtweg (s_1 und s_2) und wird dann von einem undurchlässigen Spiegel (Sp1 und Sp2) reflektiert. Der eine Spiegel ist dabei fest, der andere Spiegel beweglich gelagert. Am Strahlteiler werden die beiden Lichtstrahlen wieder kombiniert und treffen dann auf einen geeigneten Detektor (D), im einfachsten Fall das Auge. Zwischen den beiden Strahlen ergibt sich ein Wegunterschied aus der Dicke des halbdurchlässigen Spiegels (T), welchen der eine Lichtstrahl einmal, der andere dreimal durchläuft. Im klassischen Michelson-Interferometer, das nicht unter Verwendung monochromatischen Lichts arbeitet, muss dieser Wegunterschied durch einen Kompensator (K) ausgeglichen werden. Sind die so zurückgelegten Lichtwege s_1 und s_2 gleich lang, stimmen die Lichtstrahlen in ihrer Phase exakt überein, es kommt zur konstruktiven Interferenz, es ist hell. Verändert man die Position des beweglichen Spiegels Sp1 jeweils um eine halbe Wellenlänge, wechselt das Beobachtungsbild von hell zu dunkel (destruktive Interferenz). Mit zunehmend größerem Wegunterschied nimmt der Helligkeitskontrast dabei immer mehr ab, bis sich schließlich kein Intensitätsunterschied mehr feststel-

len lässt. Der Wegunterschied ist dann größer als die Kohärenzlänge der verwendeten Lichtquelle [35, 82].

4.3.3 Lichtquelle

Auswahlkriterien für Lichtquellen in OCT-Geräten sind Wellenlänge, spektrale Bandbreite, Stabilität, Handhabbarkeit und Einsetzbarkeit im Medium, sowie Kosten. Da die axiale Auflösung der OCT nur von den Kohärenzeigenschaften der Lichtquelle und nicht von Fokusparametern abhängt, kann eine höhere axiale Auflösung durch die Verwendung einer Lichtquelle mit einer kürzeren Kohärenzlänge erreicht werden. Die Kohärenzlänge ist umgekehrt proportional zu der spektralen Bandbreite (Wellenlängenverteilung) der Lichtquelle [76]. Die Eindringtiefe der OCT-Bildgebung wird limitiert durch die Absorption und Streuung der Lichtstrahlen im Gewebe. Beide Effekte sind von der Wellenlänge abhängig. Im Bereich des nahen Infrarotspektrums („near infrared light“, NIR) der zwischen 780 und 3000 nm liegt [36], existiert ein so genanntes diagnostisches Fenster bezüglich der Absorption in Blut und wasserreichem Gewebe. Jedoch nimmt die Streuung mit zunehmender Wellenlänge hin ins infrarote Spektrum zu. Bei der Anwendung im optisch nicht transparenten Medium erwies sich ein Frequenzspektrum um die 1300 nm als besonders effektiver Kompromiss zwischen Auflösung und Eindringtiefe [24].

In der Praxis wird bei OCT- Geräten meist auf Superlumineszenzdiolen (SLEDs) als einfach handhabbare, kostengünstige Lichtquelle zurückgegriffen. Diese Halbleiterlichtquellen sind eher Leuchtdioden als Laser[10].

4.3.4 Technische Umsetzung im OCT-Gerät

Die Abbildung 4 zeigt den schematischen Aufbau eines OCT-Systems, welches auf einer fiberoptischen Umsetzung eines Interferometers vom Michelsonstyp beruht. Eine kurze Superlumineszenzdiode (SLED) dient als Lichtquelle. Die SLED hat eine Wellenlänge von 1300 nm mit einer spektralen Bandbreite von ± 20 nm. Der ausgehende Lichtstrahl wird von einem halbdurchlässigen Spiegel in zwei Lichtbündel gleicher Energie und Wellenlänge geteilt.

Der eine Lichtstrahl wird als Referenzstrahl bezeichnet und auf einen rotierenden totalreflektierenden Referenzspiegel gelenkt. Dieser Lichtweg ist der Referenzarm des Interferometers. Die axiale Auflösung wird dadurch erreicht, dass der Referenzspiegel mehrere unterschiedliche Stufen an seiner Oberfläche hat und mit einer Geschwindigkeit von 3000 Umdrehungen/ Minute rotiert.

Der verbleibende Lichtstrahl wird mit Hilfe eines an der Spitze der Glasfaser angebrachten Mikroprismas senkrecht auf die Probe hin umgelenkt. Zusätzlich bewirkt eine optische Drehkopplungseinrichtung, mit der die OCT- Sonde über die sogenannte „Probe Interface Unit (PIU)“ verbunden ist, dass die Faser in der Sonde um 360° gedreht wird. Dadurch entsteht ein zweidimensionales tomographisches Bild des Gewebes. Abhängig von den optischen Eigenschaften des Gewebes wird das Licht dort absorbiert, gestreut oder reflektiert. Aufgrund von Streuung und Absorption im Gewebe ist die Eindringtiefe im Harnleiter dabei auf etwa 2 mm begrenzt. Das reflektierte Licht wird über denselben Weg zurück in die optische Einheit geleitet, wo das Signal aus dem untersuchten Gewebe mit dem Referenzlichtstrahl überlagert wird. Nur wenn der Längenunterschied zwischen den zurückgelegten Lichtwegen der beiden Strahlen innerhalb der Kohärenzlänge des verwendeten Lichts liegt, kommt es zur Interferenz. Somit definiert die Kohärenzlänge und damit die spektrale Bandbreite der Lichtquelle die axiale Auflösung des OCT- Systems [76]. Die auftretende Interferenz wird im Detektor registriert und mit einem Signalverstärker verstärkt. Das Signal wird digitalisiert und in einen Computer zum endgültigen Bild rekonstruiert.

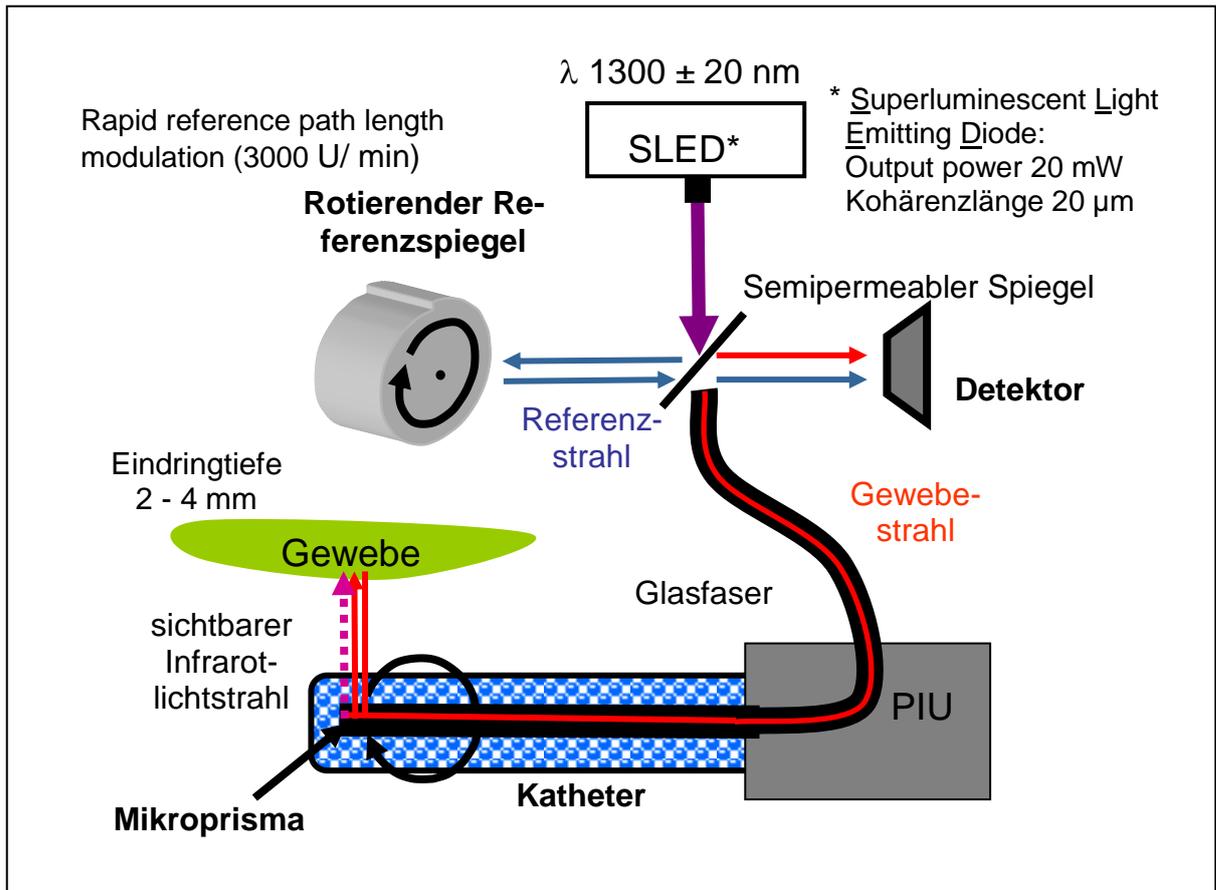


Abb. 4 Schematischer Aufbau eines OCT-Gerätes.
 Eine SLE- Diode dient als Lichtquelle. Das emittierte Lichtbündel wird mit Hilfe eines semipermeablen Spiegels in ein Referenz- und ein Gewebebündel geteilt. Der Referenzstrahl wird zum Referenzspiegel geleitet, der mehrere unterschiedliche Stufen hat und mit einer Geschwindigkeit von 3000 Umdrehungen/ min rotiert, wodurch die Weglänge des Referenzstrahls variiert wird. Der Gewebestrahle wird in die zu messende Zielregion geleitet, wo er mit Hilfe eines an der Spitze der Glasfaser angebrachten Mikroprismas im 90°- Winkel auf die Gewebeprobe umgelenkt wird. Eine optische Drehkopplungseinrichtung bewirkt, dass die Faser in dem zu untersuchenden Lumen um 360° gedreht wird. Der im Gewebe reflektierte Anteil des Gewebestrahls wird in den Glasfasern des Katheters zum semipermeablen Spiegel zurückgeleitet und auf den Detektor umgelenkt. Dort wird er mit dem vom Referenzspiegel reflektierten Referenzstrahl überlagert. Bei Interferenz der beiden Strahlen kommt es zur Signalaufzeichnung.

5 Material und Methoden

5.1 Geräte

5.1.1 OCT- Gerät

Die Untersuchungen wurden mit dem von der Firma LightLab Imaging Inc. (Westford, MA, USA) hergestellten katheterbasierten intraluminalen OCT-System M1 durchgeführt.



Abb. 5 Prototyp des M1 OCT- Geräts der Firma LightLab Imaging Inc.

Basierend auf dem Prinzip der Interferometrie nutzt das OCT- Gerät eine breitbandige Lichtquelle (Superlumineszenzdiode), die niedrigkohärentes Licht des Nahinfrarotbereichs (NIR-Licht) bei einer Wellenlänge von 1300 ± 20 nm emittiert. Bei dieser Wellenlänge erreicht die OCT eine räumliche Auflösung von 10- 20 μm in nicht- transparentem Gewebe. Das Licht erreicht die Untersuchungsstelle über eine dünne fiberoptische Glasfaser von 2,4 m Länge und 60 μm Durchmesser, die sich in einer hochflexiblen Silikonhülle mit einem Durchmesser von ca. 0,4 mm befindet. Das distale Ende der OCT-Sonde mündet in ein 25 cm langes, flexibles und transparentes Segment, das mit einer 15 mm langen röntgendichten Metall-

spitze versehen ist. Unmittelbar vor der röntgendichten Metallspitze befindet sich ein Pilotlicht.

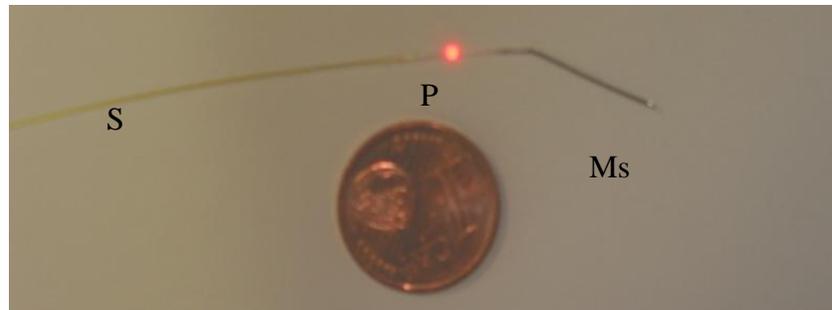


Abb. 6 OCT-Sonde zur intraluminalen Anwendung mit einem maximalen Durchmesser von 0,019" (0,4 mm). Die Abbildung zeigt das distale Ende der Sonde (S) im Größenvergleich. Vor der Metallspitze (Ms) wird ein Pilotlicht (P) emittiert.

5.1.2 Endoluminales Ultraschall-Gerät (ELUS)

Die Messungen wurden mit dem katheterbasierten Gerät CVIS der Firma Boston Scientific, Sunnyvale, CA und einer endoluminalen Ultraschallsonde (40 MHz, Durchmesser 2.7 F, monorail via 0,014 inch Draht; CVIS Insight, Fa. Boston Scientific, Sunnyvale, CA) durchgeführt.

5.1.3 Digitale Lichtmikroskopie

Die histopathologischen Untersuchungen wurden mit dem computergekoppelten Mikroskop Axioplan 2 Imaging (Hersteller Carl Zeiss Corporation, Jena, Deutschland) durchgeführt. Das Mikroskop ist auf seinem Okularteil mit dem Aufsatz einer Digitalkamera (Axio Cam HRc, Hersteller Carl Zeiss Corporation, Jena, Deutschland) ausgerüstet. Es ist mit einem Personal Computer (Pentium 3), ausgerüstet mit dem Verarbeitungsprogramm AxioVision 40, Version 4.2.0.0, gekoppelt. Es wurden die Objektive Plan Neofluar 2,5x/0,075, Plan Neofluar 5x/0,15 und Plan Alpo Chromat 10x/0,45 des Linsensystems (Carl Zeiss Corporation, Jena, Deutschland) verwendet.

5.2 Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungen wurden an Harnleitern von ausgewachsenen Hausschweinen durchgeführt, die jeweils am Untersuchungstag im Städtischen Schlachthof München mit einem Schlachtgewicht von ca. 100- 120kg geschlachtet worden waren.

5.3 Experimente

5.3.1 Versuchsaufbau

Die Pakete von Hausschwein-Nieren mit anhängenden proximalen Harnleitern und Anhangsgewebe wurden sofort nach Schlachtung bei Umgebungsdruck und -temperatur in einem luftdichten Behälter ins Labor gebracht. In den ersten zwei Stunden ab Schlachtung wurden die Präparate von der perirenenalen Fettkapsel und dem umgebenden Gewebe mittels Skalpell und anatomischer Pinzette befreit. Die Blutgefäße wurden am Nierenhilus abgesetzt. Es entstanden Präparate des oberen ableitenden Harntrakts, jeweils bestehend aus einer Niere und einem anhängenden proximalen Harnleiter. Die Präparate wurden mit handelsüblicher 0,9%-iger physiologischer Kochsalzlösung (NaCl-Lösung) äußerlich gereinigt und das Lumen des oberen Harntrakts gründlich mithilfe einer 10 ml Spritze (Terumo Spritze, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgien) gespült. Bis zu ihrer weiteren Untersuchung verblieben die Präparate in NaCl-Lösung. Das jeweils zu untersuchende Präparat wurde mit Stecknadeln auf einer Styroporplatte fixiert, so dass die lange Achse des Harnleiters orthogonal zur langen Achse der Niere stand. Das so fixierte Präparat wurde dann in einer Plastikwanne auf einen beweglichen chirurgischen Untersuchungstisch gelegt, so dass ein leichter Zugang von allen Seiten sichergestellt war.

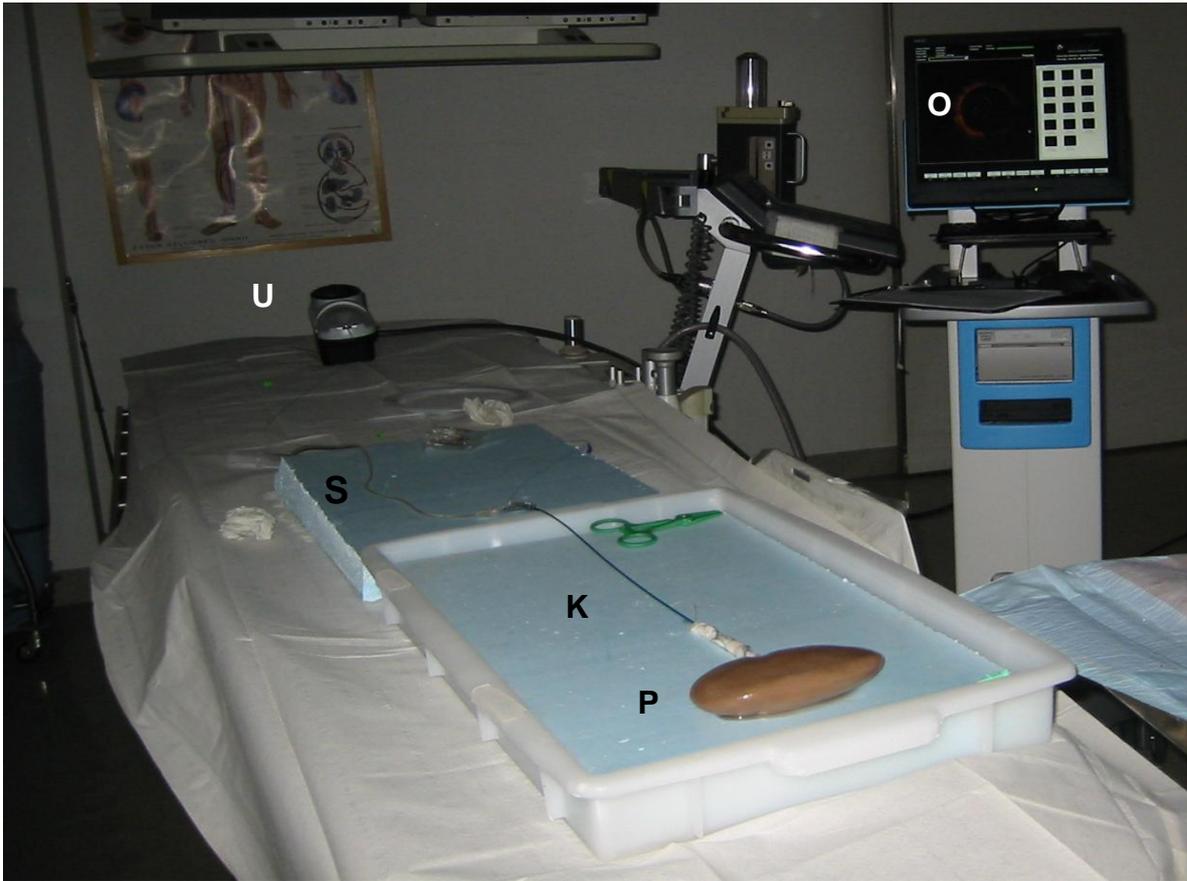


Abb. 7 Versuchsaufbau I. Im Vordergrund das Präparat des oberen Harntrakts (P), versehen mit einem Führungskatheter (K), über den die OCT-Sonde (S) eingeführt wurde. Im Hintergrund die Probe-Interface-Unit (U), die mit dem OCT-Gerät (O) verbunden ist.

Anschließend wurde das nierenferne, abgetrennte Ende des Harnleiters mit einer 7 F Katheterschleuse mit Dilatator und seitlichem Zugang für eine Spülung (Schleusen-Set 7F; Peter Pflugbeil Medizinische Instrumente, Zorneding, Deutschland) kanüliert. Die Katheterschleuse wurde zuvor über ihren seitlichen Zugang mit NaCl-Lösung gespült und der Dilatator eingeführt. Mithilfe einer chirurgischen Naht (Ethicon Ethibond Excel; Johnson & Johnson International) Größe 1 (4 Ph. Eur.) wurde die Position der Katheterschleuse innerhalb des Schweineureters gesichert, ungefähr 3 mm proximal des abgetrennten distalen Harnleiterendes. Danach wurde der Dilatator zurückgezogen. An den seitlichen Zugang der Katheterschleuse wurde über einen Dreiwegehahn (Discofix-3, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eine 10 ml Spritze (Terumo Syringe, Terumo Europe, Leuven, Belgium) mit NaCl-Lösung angebracht. Der dritte Zugang des Dreiwegehahns blieb zur Umgebungsluft hin offen, um ein Wiederausströmen der NaCl-Lösung sicherzustellen. Für die Untersuchungen wurde das Harnsammelsystem permanent derart mit NaCl-Lösung gespült, dass der Durchmesser des Querschnitts des proximalen Harnleiters ca. 3-4 mm

betrug, also der Durchmesser des Harnleiterlumens etwa 30- 50 % größer war als der Durchmesser des Querschnitts der Katheterschleuse.

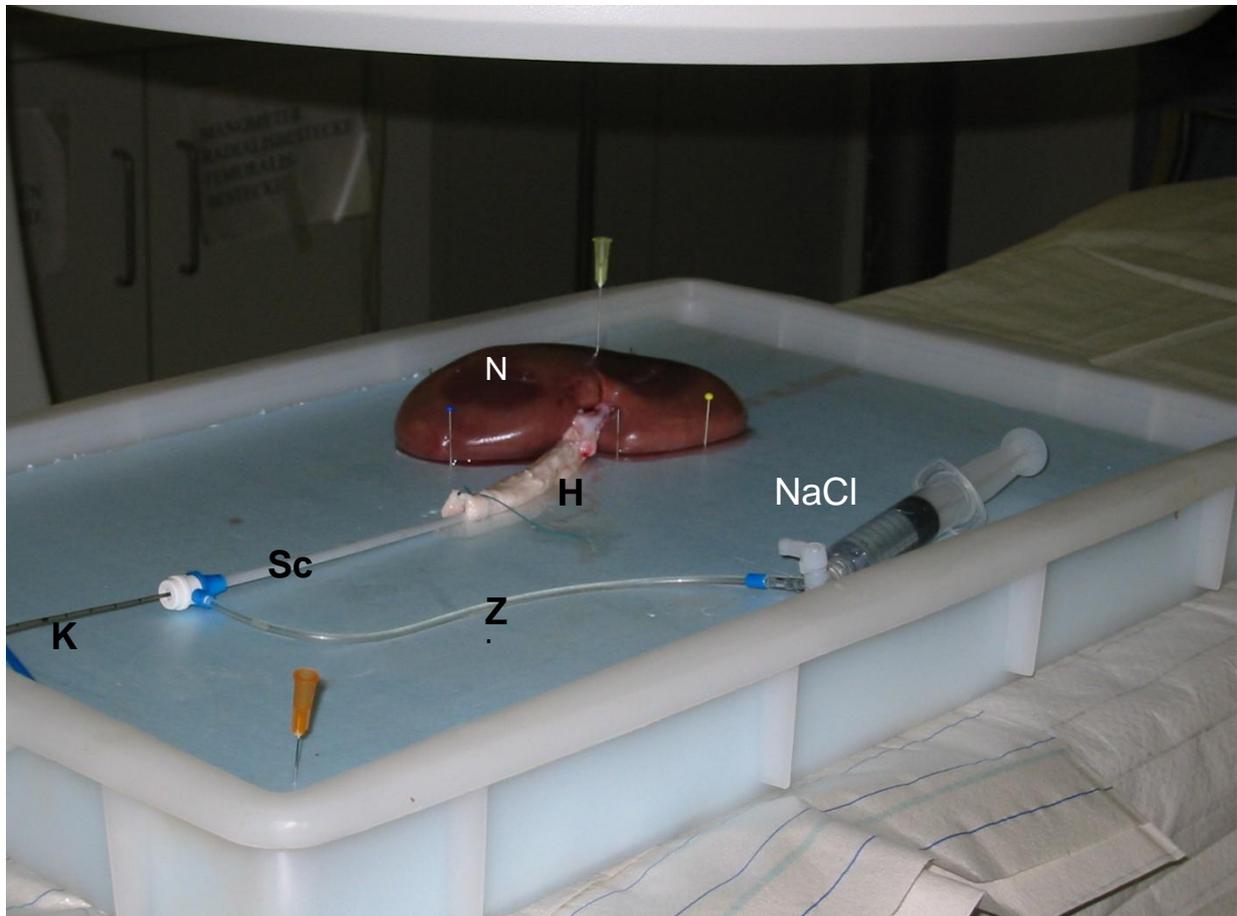


Abb. 8 Versuchsaufbau II. Das Präparat des oberen Harntrakts (Niere (N) mit proximalen Harnleiter (H)) ist mit einer Schleuse (Sc), versehen über den der Führungskatheter (K) eingebracht wurde. Über einen zweiten Zugang (Z) erfolgt die manuelle Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung (NaCl).

Verschiedene Angiographiekatheter (mit oder ohne Dilatationsballon) und in der endoskopischen Urologie verwendete Katheter waren in mehreren Vorversuchen als mögliche Führungskatheter erprobt worden. Generell waren dabei sowohl gebogene als auch gerade farblose, lichtdurchlässige Angiographie- und Ureterkatheter geeignet. Farbige Katheter (z.B. Ureterkatheter) zeigten sich als ungeeignet, da bei diesen Kathetern ein zu großer Lichtenergieverlust auftrat und eine Untersuchung innerhalb des Angiographiekatheters mittels OCT-Sonde nicht mehr möglich war. Für die Untersuchungen, die in dieser Arbeit beschrieben werden, wurde die OCT-Sonde entweder nur über den Führungskatheter positioniert und der Führungskatheter während der Messung zurückgezogen, oder die Messung erfolgte im durchsichtigen Teil des Führungskatheters.

Nachdem die OCT-Sonde manuell kalibriert worden war, wurde die rotierende OCT-Sonde im Lumen des Harnleiters zunächst ca. 3-4 cm distal des Übergangs vom Nierenbeckenkelchsystem zum Ureter (Fornix) positioniert. Die Position der OCT- Sonde wurde dabei anhand des Pilotlichtes, welches an der Außenseite des Harnleiters gut sichtbar war, bestimmt. Von dieser Stelle aus wurden weitere Messpunkte im Abstand von ca. 1 cm entlang des Harnleiters definiert. Die Messstellen wurden mit einem Stift mit permanent haftender, wasserfester Tinte (Edding) an der Außenseite des Harnleiters markiert. Zuvor war die Tinte auf einer separaten Gewebeprobe auf ihre Resistenz in 4%-iger Formalinlösung getestet worden. Zusätzlich wurden die Messstellen nach den Untersuchungen jeweils mit einem vorsichtig in der Adventitia des Harnleiters befestigten Knoten aus chirurgischer Naht Größe 1 markiert.

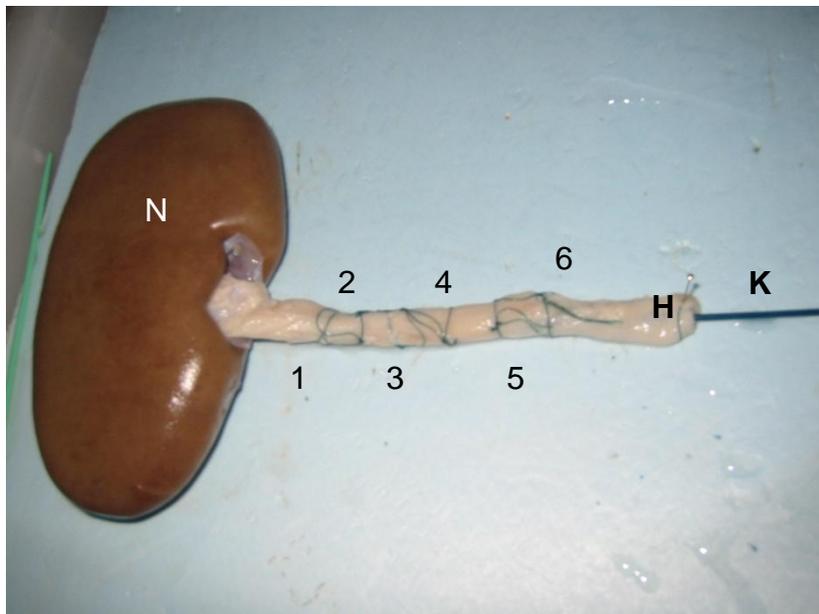


Abb. 9 Versuchsaufbau III. Präparat des oberen Hartrakts (Niere (N) und proximaler Harnleiter (H)) nach einer Untersuchung mit noch liegendem Führungskatheter (K). Die untersuchten Positionen wurden mit chirurgischer Naht markiert (1-6).

5.3.2 Versuchsdurchführung zur deskriptiven, quantitativen und morphometrischen Analyse

Präparate des ableitenden oberen Hartrakts, jeweils bestehend aus einer Niere und einem anhängenden proximalen Harnleiter, wurden wie unter 4.3.1 beschrieben vorbereitet. Es ergaben sich insgesamt elf Messstellen.

An den Messstellen wurde ein jeweils ca. 30 sec langer Bildstrom (1 Bild/ sec) zweidimensionaler Querschnittsbilder mit dem OCT- Gerät M1 aufgenommen. Vor jeder Aufnahmeserie wurde eine manuelle Rekalibrierung der OCT- Sonde durchgeführt. Die räumliche Auflösung betrug ca. 10 x 15 µm in der axialen Ebene und ca. 25 µm in der Schnittebene (Herstellerinformation, LightLAB Imaging, Inc., Westford, MA, USA). Die Bilder wurden im Archivierungsteil der Festplatte des OCT- Geräts im compression- free .tiff Format und im OCT-eigenen Format oct.raw gespeichert.

Direkt im Anschluss an die Untersuchung mit dem OCT- Gerät wurden die Messstellen in der Adventitia des Harnleiters mit einer chirurgischen Naht Größe 1 zusätzlich markiert. Anschließend wurden die Harnleiterpräparate mithilfe eines Skalpells so in ca. 1 cm große Stücke zerteilt, dass die markierte Messstelle in der Mitte des Präparats lag. Die 1 cm großen Präparate wurden sofort einzeln in Behältnisse für pathologische Proben gelegt und mit 4%iger Formalinlösung so aufgefüllt, dass sie komplett davon bedeckt waren.

Nach wenigstens 48 h in 4%iger Formalinlösung wurden nach histopathologischem Standardverfahren (Pathologisches Institut der LMU München, Dr. G. Babaryka) Hämatoxylin-Eosin- (H.E.) gefärbte Dauerpräparate erstellt. Dazu wurden die Harnleiterteile in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Paraffin eingebettet. Mit dem Mikrotom wurden 0,4 µm dicke histopathologische Schnitte angefertigt, und zwar so, dass an jeder fadenmarkierten Untersuchungsstelle zwei Präparate entstanden. Die Schnitte wurden auf einen Objektträger aufgebracht und getrocknet. Mit Xylol wurde das Paraffin entfernt und nach absteigender Alkoholreihe wurden die Präparate mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Es erfolgte eine abschließende Fixierung.

Mit dem digital ausgerüsteten Mikroskop Axioplan2 und dem Aufsatz der Digitalkamera Axio Cam HRc wurden mikroskopisch schwach (20x) vergrößerte digitale Bilder der Harnleiterquerschnitte mit einer räumlichen Auflösung von etwa 4 µm erzeugt und abfotografiert. Die digitalen Bilder wurden im Format .jpeg compression- free gespeichert.

Zunächst wurde jeweils das Beste der ca. 30 OCT- Bilder pro Messstelle ausgewählt und mit der besseren der zwei lichtmikroskopischen Aufnahmen korreliert. Die OCT- Aufnahme und die Lichtmikroskop- Aufnahme wurden durch digitale Rotation zur bestmöglichen Deckung gebracht. Da nicht sichergestellt werden konnte, dass die OCT-Sonde stets zentral im Lumen des untersuchten Harnleiters lag, wurden die 360°-Schnittbilder der Harnleiterquerschnitte zur Auswertung in jeweils vier Quadranten (je 90° des Schnittbildes) unterteilt. Damit sollten Beurteilungsvorteile in Folge geringeren Abstandes der OCT-Sonde zur Harnleiterwand (höherer Kontrast, höhere Lichtstärke) durch Beurteilungsnachteile in Folge eines

größeren Abstandes der Sonde (geringerer Kontrast, geringere Lichtstärke) ausgeglichen werden.

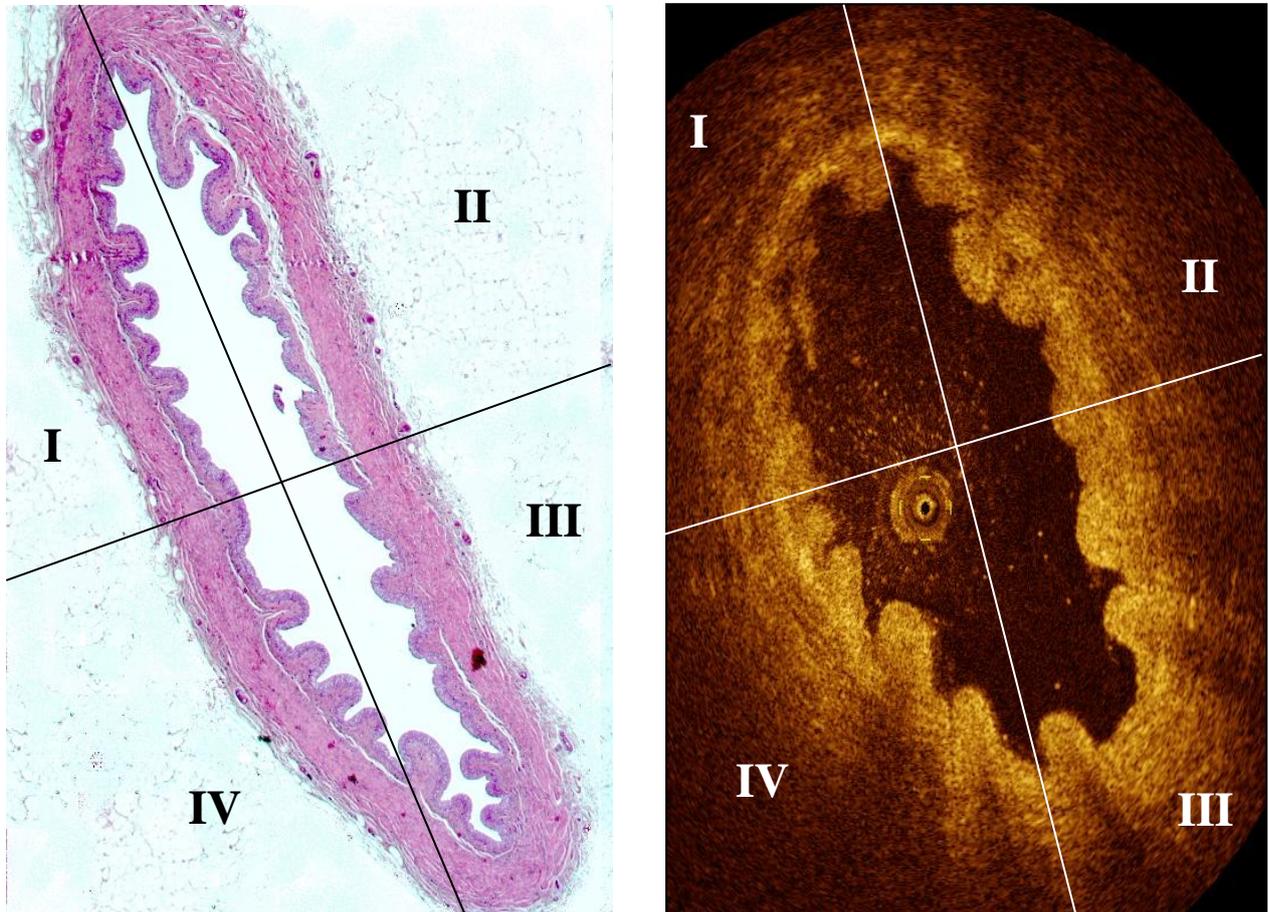


Abb. 10 Gegenüberstellung und Unterteilung in Bildquadranten von lichtmikroskopischem (Hämatoxylin/Eosin Färbung; Vergrößerung 40-fach) und OCT-Schnittbild eines mit 0,9% Kochsalzlösung dilatierten Schweineharnleiters ex vivo.

5.3.3 Versuchsdurchführung zum Vergleich OCT versus ELUS

Nach dem unter 4.3.1 geschilderten Vorgehen wurden acht Präparate des ableitenden oberen Hartrakts vorbereitet, jeweils bestehend aus einer Niere und einem anhängenden proximalen Harnleiter. Es ergaben sich je nach Harnleiterlänge des einzelnen Präparats 6-8 Messstellen, welche wie oben beschrieben markiert wurden.

An den markierten Stellen wurde ein jeweils ca. 30 sec langer Bildstrom (1 Bild/ sec) zweidimensionaler Querschnittsbilder mit dem OCT-Gerät M1 aufgenommen. Vor jeder Aufnahme

meserie wurde eine manuelle Rekalibrierung der OCT-Sonde durchgeführt. Die räumliche Auflösung betrug ca. $10 \times 15 \mu\text{m}$ in der axialen Ebene und ca. $25 \mu\text{m}$ in der Schnittebene (Herstellerinformation, LightLAB Imaging, Inc., Westford, MA, USA). Die Bilder wurden im Archivierungsteil der Festplatte des OCT-Geräts im compression-free tiff. Format und im OCT- eigenen Format oct.raw gespeichert.

Anschließend wurde eine Untersuchungsreihe mit ELUS im selben Versuchsaufbau und über den gleichen Zugangsweg durchgeführt. Es wurde mit einem standardisierten Rückzug von 1 mm/ sec mit 10 Bildern/ sec gearbeitet. Der Rückzug startete im Nierenbeckenkelchsystem und endete in der Katheterschleuse. So konnte sichergestellt werden, dass alle Messstellen der OCT-Untersuchung erfasst wurden. Da die ELUS-Sonde kein Pilotlicht emittiert, konnte die genaue Position der ELUS-Aufnahmen allerdings nicht bestimmt werden. Die so gewonnenen Aufnahmen wurden auf einem Videoband gespeichert. Die Aufnahmen wurden bei $25 \text{ frames pro Sekunde (fps)}$ digitalisiert, wobei die „Schichtdicke“ (laterale Auflösung) dann $0,2 \text{ mm}$ entsprach. Die Bilder wurden als Graustufenbilder auf einem Personal Computer gespeichert. Das weitere Vorgehen entsprach dem unter 4.3.2 geschilderten, wobei diesmal OCT- und ELUS-Bilder verglichen wurden.

5.4 Auswertung

5.4.1 Quantitative Analyse

Die quantitative Auswertung wurde von zwei voneinander unabhängigen Beobachtern (O1 (Facharzt für Urologie) und O2 (Facharzt für Radiologie)) vorgenommen. Die Auswertung erfolgte anhand der unter 4.3.2 geschilderten Gegenüberstellung von OCT- Aufnahmen (compression-free .tiff Format) und Lichtmikroskop- Aufnahmen (compression-free .jpeg Format) auf einem Personal Computer mit Hilfe einer Bildbearbeitungssoftware (Adobe Photoshop CS 8.01, Adobe Systems Inc., USA) zum Öffnen der Dateien. Da sich die rotierende Sonde während der Untersuchung nicht immer exakt in der Mitte des Lumens befand, ließen sich manche Quadranten eines Harnleiterquerschnitts schlechter darstellen als andere. Deshalb wurden die OCT- Bilder in jeweils 4 Quadranten unterteilt, wie unter 5.3.2 beschrieben. Bei 6 Harnleiterpräparaten wurden insgesamt 24 Quadranten ausgewertet.

Es wurden fünf Kriterien untersucht:

- Unterscheidbarkeit verschiedener Schichten des Harnleiters generell.
- Abgrenzbarkeit der Urothelschicht (U) gegen die Lamina propria (Lp).
- Abgrenzbarkeit der Lamina propria (Lp) von der Tunica muscularis (Tm).
- Abgrenzbarkeit zwischen Lamina muscularis interna (iM) und Lamina muscularis externa (eM).
- Unterscheidbarkeit verschiedener Zellschichten des Urothels (U).

Die Möglichkeit, diese Unterscheidungen zu treffen, wurde als möglich (1) oder unmöglich (0) angegeben. Als Unterscheidung möglich (1) wurde nur gewertet, wenn das jeweilige Kriterium im gesamten betrachteten Quadranten erfüllt war. Die Zahl der möglichen Unterscheidungen wurde für jeden Beobachter (O1 und O2) angegeben. Es wurde auch bestimmt, wie groß die Zahl und der Prozentsatz der Unterscheidungen war, in der die Beobachter übereinstimmten.

5.4.2 Morphometrische Untersuchung

In zwei Schweineharnleitern wurden an einmal sechs, einmal fünf Stellen insgesamt 11 Querschnittsbilder mit der katheterbasierten OCT erzeugt. Nach komplettem Rückzug und

Wiedervorschub der OCT- Sonde im Harnleiter wurde in einem zweiten Lauf an denselben 11 Stellen eine Wiederholung der Messreihe durchgeführt. Der erste Untersuchungsdurchgang wurde mit A, der zweite mit B bezeichnet.

Die Auswertung der Daten erfolgte durch zwei voneinander unabhängige Beobachter, O3 und O4. Vor Beginn der Auswertungen wurde festgelegt, welcher der zwei histopathologischen Schnitte am ehesten der besten OCT-Aufnahme des zu untersuchenden Harnleiterstücks entsprach und deshalb verwendet werden sollte. Anhand eines Beispielbilds wurde vereinbart, wie die Begrenzung der zu untersuchenden Schichten beurteilt werden sollte.

Die Auswertung der OCT-Bilder erfolgte am OCT-Gerät M1 mit der systemeigenen Messsoftware. Alle OCT-Aufnahmen wurden auf dem Monitor des OCT-Geräts dargestellt und in 4 Quadranten unterteilt. Es ergaben sich bei 11 Messstellen 44 Quadranten. Für die Messungen wurde der entsprechende Quadrant am Bildschirm des Untersuchungsgeräts in der maximal verfügbaren optischen Vergrößerung angezeigt. In allen Quadranten wurden - soweit möglich - jeweils drei Messwerte für das Urothel, die Lamina propria und die Tunica muscularis erhoben. Die Ergebnisse wurden in eine Excel 2003 (Microsoft Corporation) Tabelle übertragen. Für jeden Harnleiterschnitt wurden aus den Messdaten jeweils Mittelwert und Standardabweichung für Urothelschichtdicke, Schichtdicke der Lamina propria und Schichtdicke der Tunica muscularis berechnet. Die Messungen wurden von beiden Untersuchern nach einem Abstand von mindestens vier Wochen wiederholt. Der erste Messdurchgang wurde mit D1, der zweite Durchgang mit D2 bezeichnet.

Die Auswertung der lichtmikroskopischen Bilder erfolgte ebenfalls durch die beiden Beobachter, O3 und O4, unabhängig voneinander, mindestens 4 Wochen nachdem die Auswertung der OCT-Daten vollständig abgeschlossen war. An jedem histopathologischen Schnitt wurden - soweit möglich - zehn gleichmäßig über den Schnitt verteilte Messwerte erhoben. Anschließend wurden für jeden Harnleiterschnitt aus den erhobenen Daten jeweils Mittelwert und Standardabweichung für Urothelschichtdicke, Schichtdicke der Lamina propria und Schichtdicke der Tunica muscularis gebildet.

Im Anschluss an die Messungen erfolgte ein Vergleich der Versuchsdaten von OCT und Lichtmikroskopie. Dazu wurden Bland-Altman Grafiken [27] für die gemessenen Schichtdicken des Urothels, der Lamina propria und der Tunica muscularis erstellt. Bei dieser Form der Darstellung wird die Schichtdickendifferenz gegen die mittlere Schichtdicke aufgetragen, wodurch sich Schwankungen der gemessenen Schichtdicken leicht erkennen lassen.

Es wurde mit einem Student-t-Test für verbundene Stichproben [28] gesondert für jeden Beobachter ermittelt, ob ggf. festgestellte Unterschiede zwischen den ermittelten Mittelwer-

ten von OCT- und lichtmikroskopischen Messwerten signifikant waren. Als statistisch signifikant wurde $p < 0,05$ gewertet.

Für die Interobservervalidität (O3, O4), die Intraobservervalidität (Messdurchgänge D1, D2) sowie die Retestrelabilität (Untersuchungsdurchgänge A, B) wurden jeweils die Mittelwerte der korrespondierenden Quadranten miteinander verglichen. Die Signifikanz der Ergebnisse wurde dabei mit einem Student-t-Test [28] für verbundene Stichproben ermittelt. Als statistisch signifikant wurde $p < 0,05$ gewertet.

5.4.3 Auswertung OCT versus ELUS

Zur Auswertung der digitalisierten OCT- und ELUS- Bilder wurden diese auf einen Personal Computer heruntergeladen und mithilfe einer Bildbearbeitungssoftware (Adobe Photoshop CS 8.01, Adobe Systems Inc., USA) wiedergegeben. Sowohl die ELUS- als auch die OCT- Bilder wurden in jeweils 4 Quadranten unterteilt. Die zwei voneinander unabhängigen Beobachter (O1 und O2) werteten nacheinander die OCT- und ELUS- Bilder entsprechend den unter 5.4.1 geschilderten Kriterien aus. Zusätzlich wurde der Grad der Unterscheidbarkeit für OCT und ELUS mithilfe eines Chi- Quadrat Tests mit Yates` s Kontinuitätskorrektur nach Glantz berechnet [29]. $P < 0.05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

6 Ergebnisse

6.1 Deskriptive Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie

In histologischen Schnitten der Harnleiterwand von Schweinen waren bei geringer lichtmikroskopischer Vergrößerung (40- bis 100-fach) von innen nach außen vier verschiedene Schichten abgrenzbar: das Urothel (bestehend aus mehreren Zellschichten), die Lamina propria, eine zirkulär verlaufende Lamina muscularis interna und eine longitudinal verlaufende Lamina muscularis externa. Diese Schichten waren umgeben von der Tunica adventitia. Die Basalmembran war in der von uns verwendeten Auflösung nicht als einzelne Struktur erkennbar, war jedoch als scharfe Trennlinie zwischen Urothel und Lamina propria anzunehmen.

Die OCT-Querschnittsbilder der Harnleiterwand von Schweinen zeigten eine charakteristische Dreischichtung (vgl. Abb. 11). Zunächst bildete sich ganz lumennah eine mäßig reflektierende Schicht mittlerer Helligkeit ab. Diese entsprach dem Urothel. Sehr vereinzelt ließen sich darin kubische bis runde Strukturen erkennen, die als einzelne Zellen angesehen werden könnten. Auf diese mäßig reflektierende Schicht folgte nach außen hin ein zweites, sehr intensiv reflektierendes helles Band mit vereinzelt sehr stark reflektierenden länglichen Unterschichten, das als Lamina propria interpretiert wurde. Vereinzelt zeigten sich darin ovale, wenig reflektierende Strukturen, die Kapillaren entsprechen könnten. An der Grenze der mäßig reflektierenden ersten Schicht zur zweiten, stark reflektierenden Schicht war die Basalmembran als dünne, dunkle Linie angedeutet. Im Anschluss an die stark reflektierende Lamina propria bildete sich nach außen hin eine dritte, schwach reflektierende Schicht ab. Diese stellte sich insgesamt relativ homogen und reflexarm dunkel dar und wurde als Lamina muscularis interna bzw. Lamina muscularis externa interpretiert. Vereinzelt ließen sich in dieser Schicht rund oder nach außen hin länglich angeschnittene Strukturen erkennen, bei denen es sich möglicherweise um einzelne angeschnittene Muskelzellen handelte. Den Abschluss nach außen bildete die kontrastarme Tunica adventitia, die sich aufgrund der beschränkten Eindringtiefe der OCT nicht vollständig darstellte.

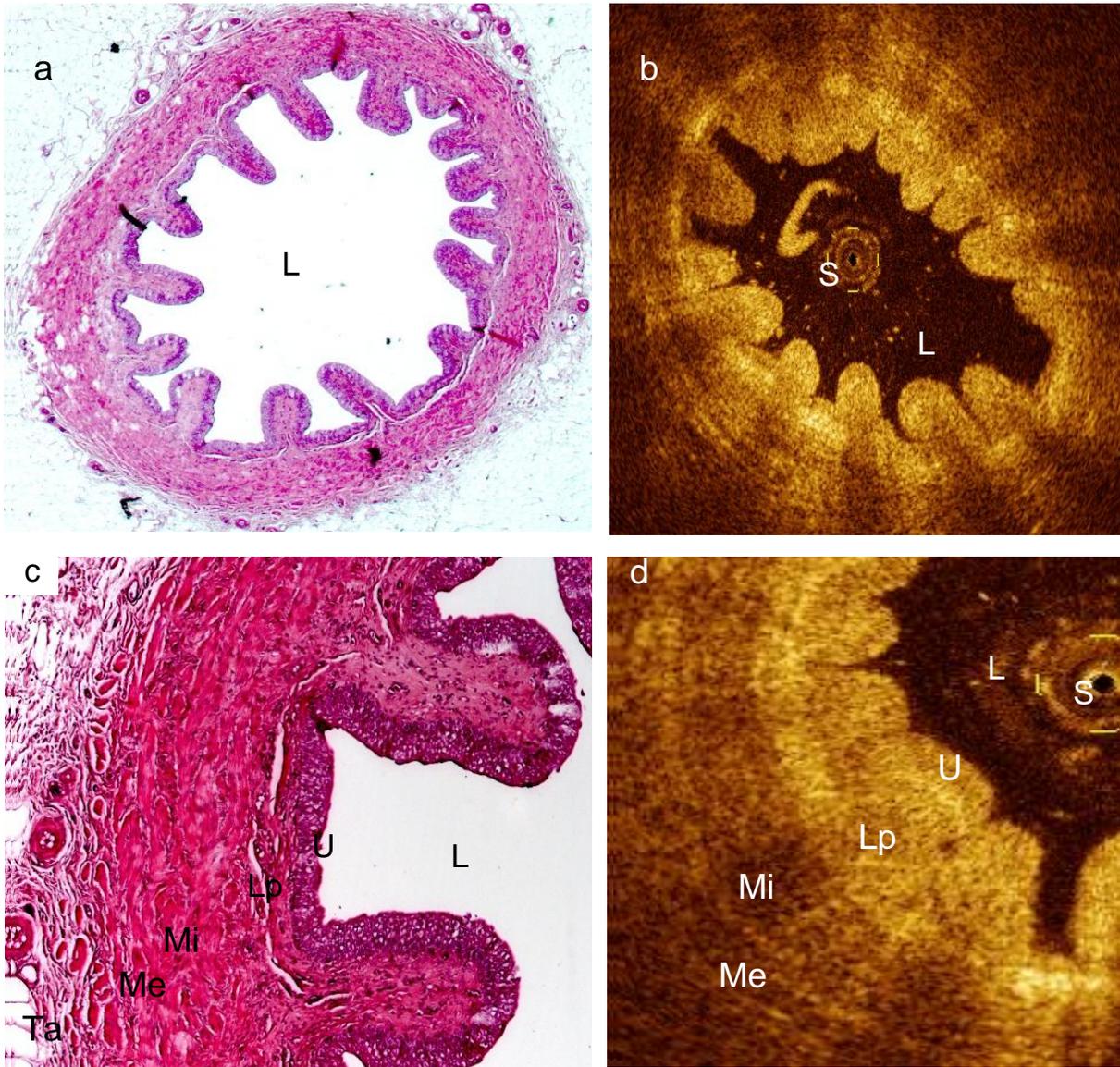


Abb. 11 a-d Axiales histologisches (Hämatoxylin/Eosin Färbung; Vergrößerung 40- und 100-fach) und OCT-Schnittbild eines normalen Schweineharnleiters. **a** Lichtmikroskopisches Schnittbild (Vergrößerung 40-fach). **b** OCT-Schnittbild desselben Harnleiterabschnitts. **c** Die Histologie (Vergrößerung 100-fach) zeigt eine Vierschichtung der Harnleiterwand in Urothelschicht (U), Lamina propria (Lp), Tunica muscularis unterteilt in Lamina muscularis interna (Mi) und Lamina muscularis externa (Me) und Tunica adventitia (Ta). **d** Das korrespondierende OCT-Bild stellt die Urothelschicht mit mäßiger Signalintensität dar, die Lamina propria mit hoher Signalintensität und die Tunica muscularis in überwiegend geringer Signalintensität. S= Sondenartefakt bedingt durch OCT-Katheter; L= Lumen.

6.2 Quantitativer Vergleich: OCT und Lichtmikroskopie

Bei sechs *ex vivo* Ureter-Präparaten von Hausschweinen wurden 24 Quadranten ausgewertet (siehe Tabelle 1).

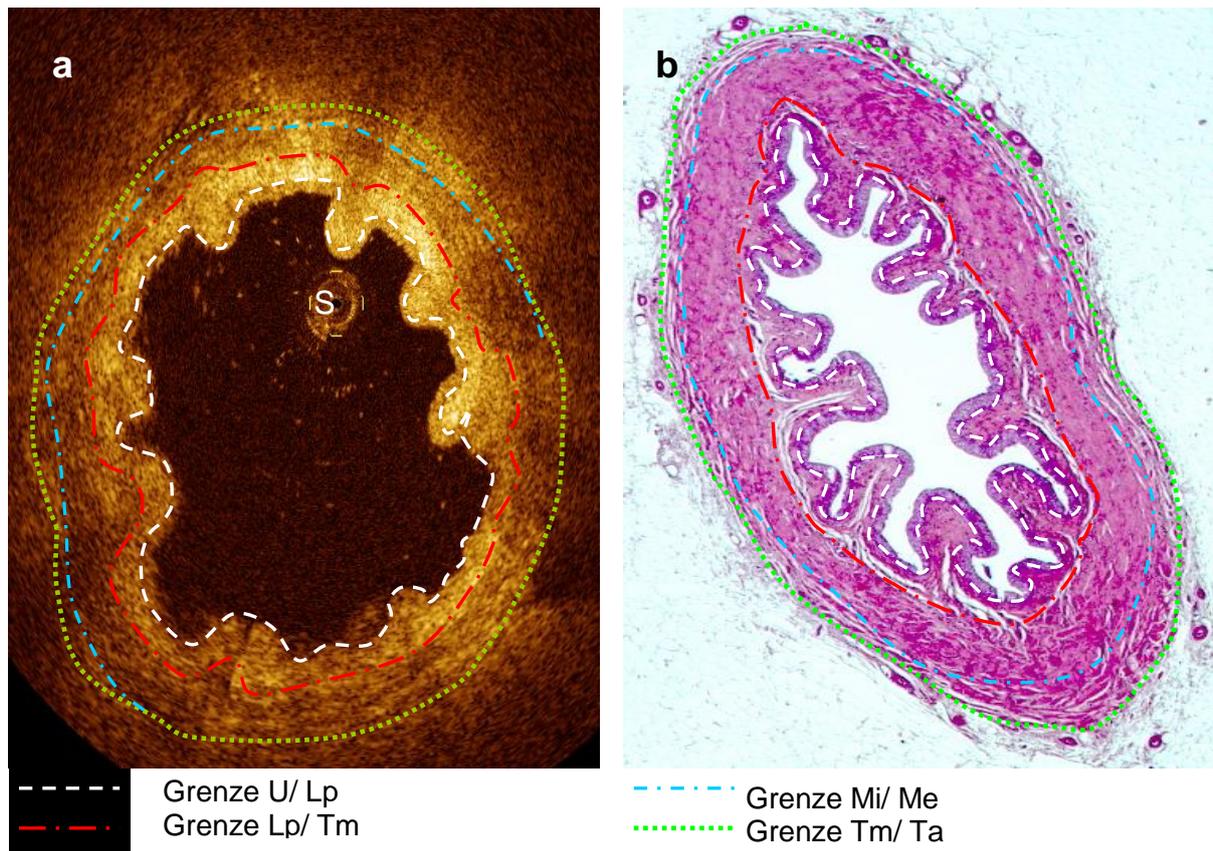


Abb. 12a, b Histologisches und OCT-Schnittbild eines mit 0,9% Kochsalzlösung dilatierten Schweineharnleiters *ex vivo*. Eingezeichnet sind jeweils die (vermuteten) Grenzen zwischen Urothel (U) und Lamina propria (Lp), Lamina propria und Tunica muscularis (Tm), Tunica muscularis und Tunica adventita (Ta), sowie zwischen Lamina muscularis interna (Mi) und externa (Me) (siehe Legende); S= Sondenartefakt
a Lichtmikroskopisches Schnittbild (Hämatoxylin/Eosin Färbung, Vergrößerung 40-fach). **b** OCT-Schnittbild desselben Harnleiterabschnitts.

Beim Vergleich von OCT-Bildern mit ihren entsprechenden, durch niedrig auflösende Lichtmikroskopie erstellten Gegenstücken, fanden die Beobachter O1 und O2 es in allen Fällen möglich, die verschiedenen Schichten der Harnleiterwand mittels OCT zu unterscheiden. Besonders eine Unterscheidung zwischen Urothel zu Lamina propria erschien ihnen fast immer möglich (O1 in 23 von 24 Quadranten, O2 in 24 von 24 Quadranten). Beide Beobachter fanden, dass eine Abgrenzung von Lamina propria zur Tunica muscularis möglich war (O1 in 19 von 24 Quadranten, O2 in 16 von 24 Quadranten). Sie stimmten hierbei in der

Hälfte der OCT- Quadranten überein (Übereinstimmung in 12 von 24 Quadranten). In über der Hälfte der OCT- Bilder unterschied O1 zwischen einer Lamina muscularis interna von einer externa (O1 in 13 von 24 Quadranten) und erkannte in der Urothelschicht einzelne Zellen (O1 in 13 von 24 Quadranten). O2 unterschied Lamina muscularis interna bzw. externa in 0 von 24 Quadranten und einzelne Zellen in der Urothelschicht in 2 von 24 Quadranten.

Tabelle 1 Unterscheidbarkeit verschiedener Wandschichten der normalen Schweineharnleiterwand mittels kathetergestützter OCT (zwei unabhängige Untersucher (O1, O2), n = 24 OCT- Quadranten).

<u>Unterscheidbarkeit</u>	<u>O1</u>	<u>O2</u>	<u>Übereinstimmung</u>
Verschiedene Wandschichten	24	24	24 (100%)
Urothel - Lamina propria	23	24	23 (96%)
Lamina propria - Tunica muscularis	19	16	12 (50%)
Lamina muscularis interna - externa	13	0	0
Einzelne Zellen in der Urothelschicht	13	2	0

6.3 Morphometrische Untersuchung

In insgesamt elf *ex vivo* Ureter Präparaten wurden OCT- Querschnittsbilder aufgenommen und mit den elf korrespondierenden histologischen Schnitten verglichen.

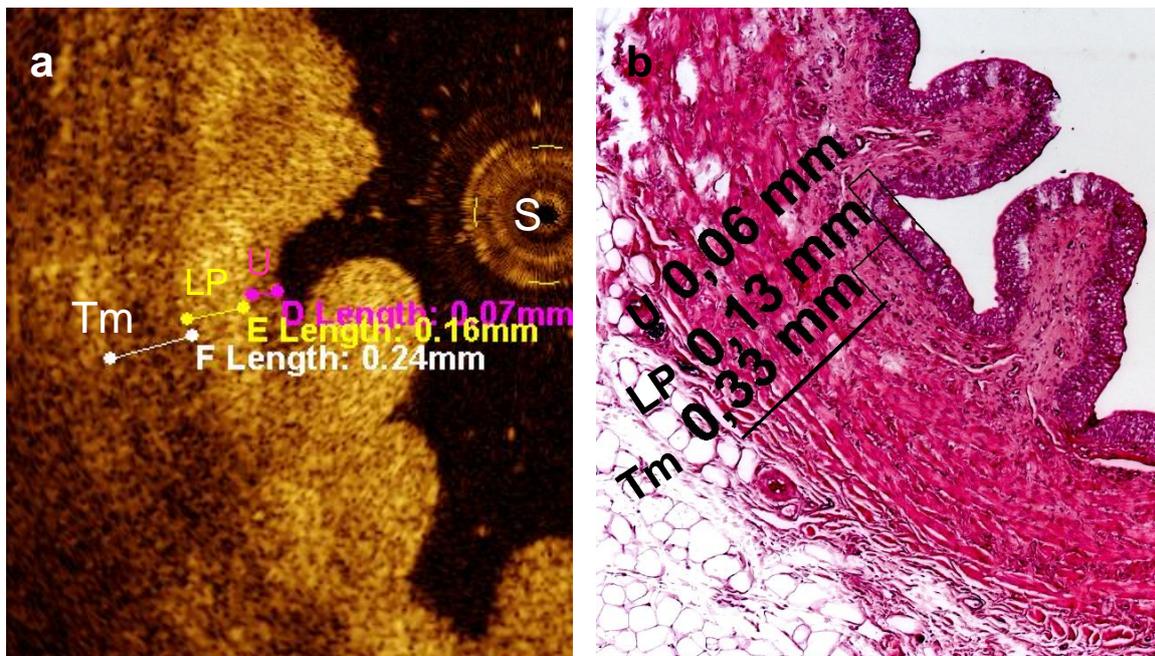


Abb. 13 a, b Beispiel der Schichtdickenmessung des Urothels (U), der Lamina propria (LP) und der Tunica muscularis (Tm) in einem OCT- und dem korrespondierenden histologischen (Hämatoxylin/ Eosin Färbung; Vergrößerung 100-fach) Schnittbildausschnitt. S= Sondenartefakt
a Messung der Schichtdicken mit der systemeigenen Messsoftware des M1 OCT-Prototyps. **b** Messung der histologischen Schichtdicken mit der Messsoftware AxioVision 40, Version 4.2.0.0

Urothel

Die Messung der Urothelschichtdicke erbrachte in der OCT im Mittel beider Beobachter $0,08 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$, in der Lichtmikroskopie (LM) eine mittlere Dicke von $0,06 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$. Die gemessenen Werte waren in der OCT signifikant größer als in der LM ($p= 0,0001$). Dies traf für Beobachter O3 (OCT $0,09 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$, LM $0,07 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, $p= 0,0004$) und O4 (OCT $0,07 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, LM $0,05 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$; $p= 0,0008$) zu (vgl. Tabelle 2 und im Anhang Tabelle 3). In der Bland-Altman Analyse zeigte sich eine mittlere Überschätzung der Urothelschichtdicke durch die OCT um $0,03 \text{ mm}$ im Vergleich zur LM (vgl. Abb. 14 - 16).

Lamina propria

Die Messung der Schichtdicke der Lamina propria ergab in der OCT einen Gesamtmittelwert von $0,20 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$, in der LM eine mittlere Dicke von $0,25 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$. Der Unterschied der gemessenen Werte in der OCT im Vergleich zur LM war signifikant ($p= 0,0291$). Beobachter O3 bestimmte in der OCT und in der LM insgesamt annähernd gleiche Schichtdickenwerte (OCT $0,19 \text{ mm} \pm 0,03 \text{ mm}$, LM $0,19 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$, $p= 0,8649$), während Beobachter O4 sie in der OCT signifikant kleiner beurteilte (OCT $0,21 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$, LM $0,31 \text{ mm} \pm 0,15 \text{ mm}$, $p= 0,0054$) (vgl. Tabelle 2 und im Anhang Tabelle 4). In der Bland-Altman Analyse zeigte sich eine mittlere Unterschätzung der Schichtdicke der Lamina propria durch die OCT um $0,05 \text{ mm}$ im Vergleich zur LM (Abb. 14 - 16).

Tunica muscularis

Die Messung der Schichtdicke der Tunica muscularis erbrachte in der OCT einen Gesamtmittelwert von $0,46 \text{ mm} \pm 0,15 \text{ mm}$, in der LM eine mittlere Dicke von $0,47 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$. Der Unterschied der gemessenen Werte in der OCT im Vergleich zur LM war insgesamt nicht signifikant ($p= 0,7080$). Beobachter O3 bestimmte in der OCT und in der LM insgesamt annähernd gleiche Schichtdickenwerte (OCT $0,58 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, LM $0,49 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, $p= 0,1302$), während Beobachter O4 sie in der OCT signifikant kleiner beurteilte (OCT $0,33 \text{ mm} \pm 0,06 \text{ mm}$, LM $0,45 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, $p= 0,0044$) (vgl. Tabelle 2 und im Anhang Tabelle 5). In der Bland-Altman Analyse zeigte sich eine mittlere Unterschätzung der Schichtdicke der Tunica muscularis durch die OCT um $0,01 \text{ mm}$ im Vergleich zur LM (Abb. 14 - 16).

Tabelle 2 Schichtdickenmessungen von Urothel, Lamina propria und Tunica muscularis.

Beobachter	Urothel					Lamina propria					Tunica muscularis				
	OCT		LM		t-test	OCT		LM		t-test	OCT		LM		t-test
	MW	StW	MW	StW	p	MW	StW	MW	StW	p	MW	StW	MW	StW	p
(O3 + O4) / 2	0,08	0,02	0,06	0,01	0,0001	0,20	0,04	0,25	0,09	0,0291	0,46	0,15	0,47	0,04	0,7080
O3	0,10	0,01	0,07	0,01	0,0004	0,19	0,03	0,19	0,05	0,8649	0,58	0,09	0,49	0,09	0,1302
O4	0,07	0,01	0,05	0,01	0,0008	0,21	0,05	0,31	0,15	0,0054	0,33	0,06	0,45	0,09	0,0044

Die Werte der Schichtdickenmessungen sind angegeben als Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (StW) ermittelt in OCT- und lichtmikroskopischen Bildern von 11 Harnleiterpräparaten durch die Beobachter O3 und O4, sowie beide Beobachter im Mittel. Die p- Werte der Ergebnisse wurden angegeben.

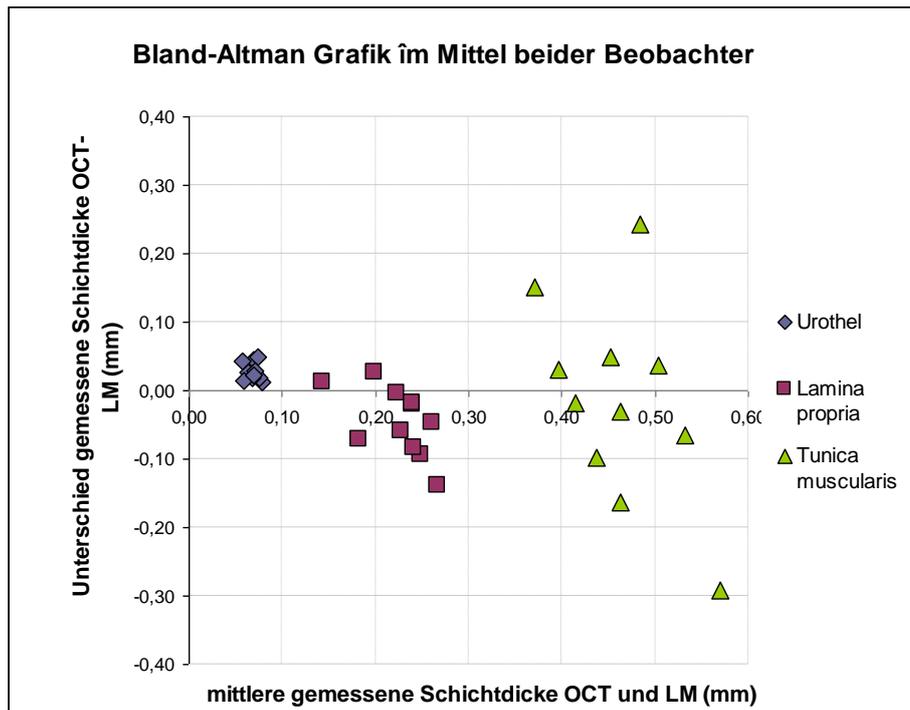


Abb. 14 Bland-Altman Grafik im Mittel beider Beobachter (O3 + O4).

Bland-Altman Grafik für die gemessenen Schichtdicken des Urothels, der Lamina propria und der Tunica muscularis für die Mittelwerte beider Beobachter zur ersten Sondenposition, vergleichend für OCT und LM bei 40-100-facher Vergrößerung.

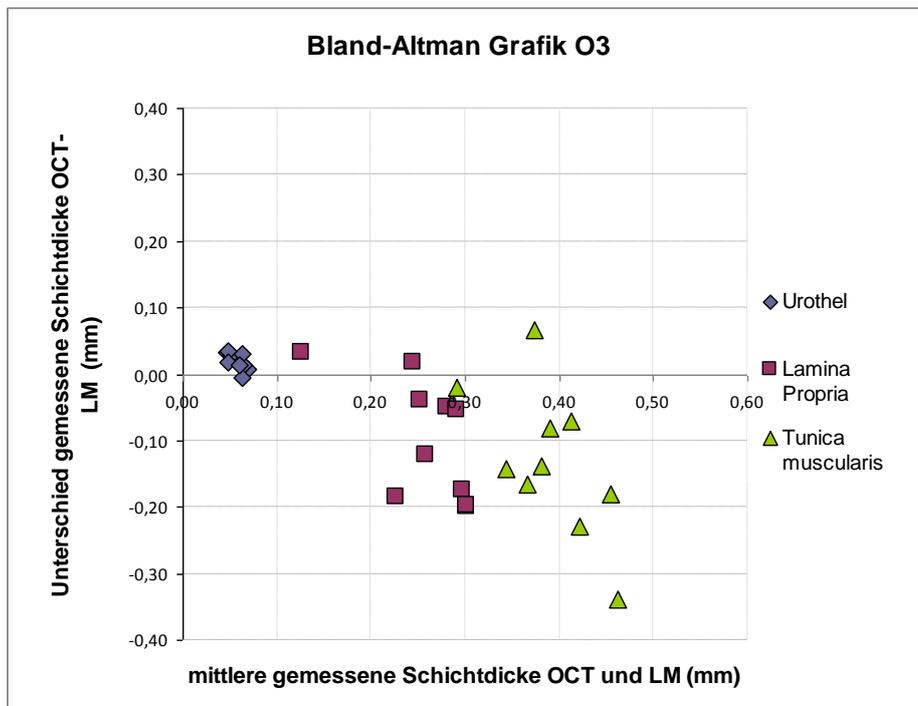


Abb. 15 Bland Altman Grafik für Beobachter O3.

Bland Altman Grafik für die gemessenen Schichtdicken des Urothels, der Lamina propria und der Tunica muscularis für die Mittelwerte beider Beobachter zur ersten Sondenposition, vergleichend für OCT und LM bei 40-100-facher Vergrößerung.

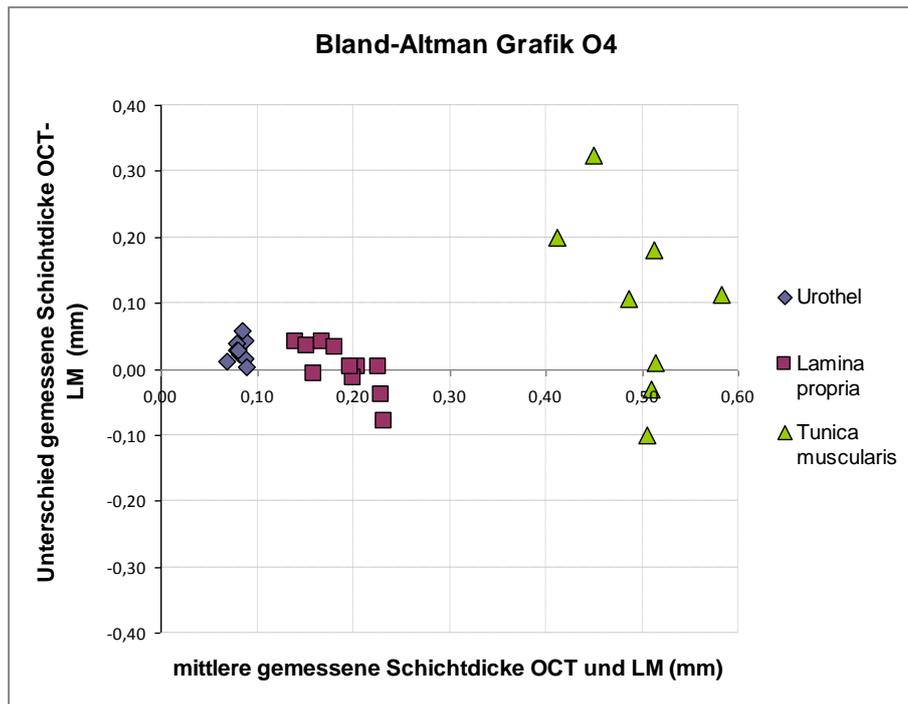


Abb. 16 Bland-Altman Grafik für Beobachter O4.

Bland-Altman Grafik für die gemessenen Schichtdicken des Urothels, der Lamina propria und der Tunica muscularis für die Mittelwerte beider Beobachter zur ersten Sondenposition, vergleichend für OCT und LM bei 40-100-facher Vergrößerung.

Interobservervalidität

Für die Bewertung der Interobservervalidität konnten für die Schichtdickenmessung des Urothels 30 von 44 Quadranten, für die Schichtdickenmessung der Lamina propria 41 von 44 Quadranten und für die Messung der Tunica muscularis 35 von 44 Quadranten (11 Harnleiterpräparate) verglichen werden.

O3 ermittelte für die Urothelschichtdicke sowohl in der OCT als auch in der LM signifikant größere Werte als O4. Damit war die Interobserverabweichung zwischen den Beobachtern für die Messung der Urothelschichtdicke sowohl in der OCT als auch in der LM signifikant hoch (OCT: $p=0,0001$; LM: $p=0,0032$).

O3 ermittelte für die Schichtdicke der Lamina propria sowohl in der OCT als auch in der LM signifikant kleinere Werte als O4. Die Interobserverabweichung der beiden Beobachter bei der Messung der Schichtdicke der Lamina propria in der OCT und in der LM war signifikant hoch (OCT $p=0,0180$, LM $p=0,0007$).

O3 ermittelte für die Schichtdicke der Tunica muscularis sowohl in der OCT als auch in der LM größere Werte als O4. Die Interobserverabweichung war bei der Messung der Schichtdi-

cke der Tunica muscularis in der OCT signifikant hoch ($p= 0,0001$). In der LM war eine Interobserverabweichung gering ($p> 0,1899$).

Intraobservervalidität

Die Intraobservervalidität konnte bei O3 für die Bewertung des Urothels in 18, für die Lamina propria 31 und für die Tunica muscularis in 28 von 36 Quadranten von insgesamt 11 Harnleiterpräparaten überprüft werden. Es ergab sich für die Schichtdickenmessung des Urothels durch O3 zu zwei verschiedenen Zeitpunkten (A: D1 und 2) kein signifikanter Unterschied (OCT D1 $0,10 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, OCT D2 $0,09 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$; $p= 0,8420$). Für die Messung der Lamina propria ergab sich ein signifikanter Unterschied (OCT D1 $0,19 \text{ mm} \pm 0,03 \text{ mm}$, OCT D2 $0,21 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$; $p= 0,0438$). Die Wiederholung der Messung der Tunica muscularis ergab keinen signifikanten Unterschied (OCT D1 $0,58 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, OCT D2 $0,63 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$; $p= 0,0729$).

Die Intraobservervalidität konnte bei O4 für die Bewertung des Urothels in 23, für die Lamina propria 31 und für die Tunica muscularis in 26 von 36 Quadranten überprüft werden. Es ergab sich für die Schichtdickenmessung des Urothels durch O4 kein signifikanter Unterschied (OCT D1 $0,07 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, OCT D2 $0,06 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$; $p= 0,6371$). Für die Messung der Lamina propria ergab sich ein signifikanter Unterschied (OCT D1 $0,22 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$, OCT D2 $0,20 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$; $p= 0,0126$). Die Wiederholung der Messung der Tunica muscularis ergab einen signifikanten Unterschied (OCT D1 $0,33 \text{ mm} \pm 0,06 \text{ mm}$, OCT D2 $0,48 \text{ mm} \pm 0,07 \text{ mm}$; $p< 0,0001$).

Retestreliabilität (Sondenpositionswiederholung)

Die Retestreliabilität für die Wiederholung der Sondenpositionierung konnte bei O3 für die Bewertung des Urothels in 27, für die Lamina propria in 38 und für die Tunica muscularis in 36 von 44 Quadranten überprüft werden. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in der bestimmten Schichtdickenmessung des Urothels (OCT D1A $0,10 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, OCT D1B $0,09 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$; $p= 0,1087$). Für die Messung der Lamina propria ergab sich kein signifikanter Unterschied (OCT D1A $0,19 \text{ mm} \pm 0,03 \text{ mm}$, OCT D1B $0,21 \text{ mm} \pm 0,03 \text{ mm}$; $p= 0,1103$). Die Wiederholung der Messung der Tunica muscularis ergab einen signifikanten Unterschied (OCT D1A $0,58 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, OCT D1B $0,49 \text{ mm} \pm 0,07 \text{ mm}$; $p= 0,0004$).

Die Retestreliabilität konnte bei O4 für die Bewertung des Urothels in 31, für die Lamina propria in 39 und für die Tunica muscularis in 35 von 44 Quadranten überprüft werden. Es

ergab sich für die Schichtdickenmessung des Urothels durch O4 kein signifikanter Unterschied (OCT D1A 0,07 mm \pm 0,01 mm, OCT D1B 0,07 mm \pm 0,02 mm; p= 0,9841) für die Messung der Lamina propria ergab sich kein signifikanter Unterschied (OCT D1A 0,21 mm \pm 0,05 mm, OCT D1B 0,21 mm \pm 0,04 mm; p= 0,8413). Die Wiederholung der Messung der Tunica muscularis ergab keinen signifikanten Unterschied (OCT D1A 0,33 mm \pm 0,06 mm, OCT D1B 0,36 mm \pm 0,05 mm; p= 0,2188).

6.4 Quantitative Analyse: OCT und ELUS

An 56 (n= 224) verschiedenen Positionen wurden OCT-Bilder aufgenommen. Aus den ELUS-Videoaufzeichnungen der Harnleiter wurden 36 Bilder (n= 144) von unterschiedlichen Sondenpositionen ausgewertet. Da die ELUS-Sonde im Gegensatz zur OCT-Sonde kein Pilotlicht emittiert, ließen sich die Untersuchungsstellen innerhalb der Harnleiter nicht exakt reproduzieren. Daher war ein unmittelbarer Vergleich zwischen OCT- und ELUS-Bildern für dieselbe Untersuchungsstelle nicht möglich.

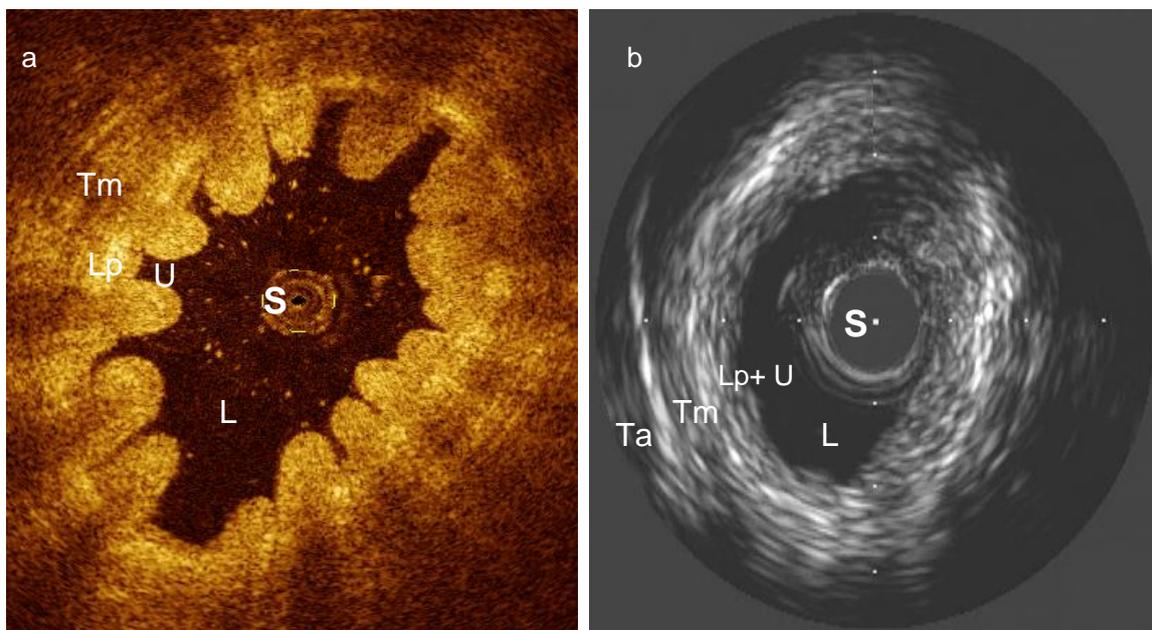


Abb. 17 a, b OCT- und ELUS-Schnittbild eines mit 0,9% Kochsalzlösung dilatierten Schweineharnleiters ex vivo.
a OCT-Schnittbild mit deutlichem optischen Unterschied zwischen Urothel (U) und Lamina propria (LP). **b** ELUS-Schnittbild
S= Sonde, L= Lumen, U= Urothel, Lp= Lamina propria, Tm= Tunica muscularis, Ta= Adventita

Die Beobachter O1 und O2 konnten in 89% (O1) bzw. 89% (O2) der OCT-Bildquadranten zwischen verschiedenen Wandschichten des Harnleiters unterscheiden. Dabei stimmten sie in 89% der Fälle überein. Mit 83% Übereinstimmung konnten die beiden Untersucher in 76% bzw. 85% der Quadranten zwischen Urothel und Lamina propria unterscheiden. Zwischen der Lamina propria und der Tunica muscularis konnten sie in 81% bzw. 76% der Quadranten mit 76 % Übereinstimmung unterscheiden. Eine Abgrenzung zwischen Lamina muscularis interna und externa stellte O1 bei 87% der Quadranten fest, eine Unterscheidung einzelner Zellen innerhalb der Urothelschicht in 71% der OCT-Bildquadranten. Diese Unterscheidungen konnte O2 in weniger als 5% der Bildquadranten treffen (vgl. Tabelle 2).

Bei der Auswertung der ELUS-Bildquadranten konnten die Beobachter O1 und O2 in 49% (O1) bzw. 50% (O2) der Quadranten zwischen verschiedenen Wandschichten des Harnleiters unterscheiden. Dabei stimmten sie bezüglich der Nichtunterscheidbarkeit in 67% der Fälle überein. Zwischen Urothel und Lamina propria konnten die Beobachter in 0% bzw. 2% der Quadranten unterscheiden. Mit 98% Übereinstimmung konnten sie nicht zwischen Urothel und Lamina propria unterscheiden. Zwischen der Lamina propria und der Tunica muscularis konnten sie in 49% bzw. 44% der Quadranten unterscheiden. Bezüglich der Nichtunterscheidbarkeit stimmten sie dabei in 65% der Quadranten überein. Eine Abgrenzung zwischen Lamina muscularis interna und externa stellte O1 bei 0%, O2 bei 1% der Quadranten fest. Eine Unterscheidung einzelner Zellen innerhalb der Urothelschicht konnte weder O1 noch O2 in den ELUS-Bildquadranten erkennen (vgl. Tabelle 2).

Die in Tabelle 6 (siehe Anhang) dargestellten Daten zeigen, dass die OCT dem ELUS bei der Abgrenzung der verschiedenen Harnleiterwandschichten hochsignifikant überlegen war: Das gilt sowohl hinsichtlich der Unterscheidbarkeit einzelner Schichten (O1/O2: $\chi^2 = 68.1051 / 66.1630$, $p < 0.001$), als auch im Hinblick auf die Abgrenzbarkeit von Urothel und Lamina propria (O1/O2: $\chi^2 = 200.0750 / 240.0024$, $p < 0.001$), wie auch für die Abgrenzbarkeit der Lamina propria von der Tunica muscularis (O1/O2: $\chi^2 = 38.8411 / 24.7536$, $p < 0.001$). Die beiden Beobachter bewerteten die Abgrenzbarkeit der Lamina muscularis interna von der Lamina muscularis externa sowohl in der OCT als auch im ELUS unterschiedlich (O1: $\chi^2 = 260.3004$, $p < 0.001$, O2: $\chi^2 = 0.4992$, $p > 0.25$). Ebenso unterschieden sich die beiden Beobachter in der Einschätzung der Abgrenzbarkeit einzelner Zellschichten im Urothel (O1: $\chi^2 = 177.0943$, $p < 0.001$, O2: $\chi^2 = 2.4288$, $p > 0.10$).

7 Diskussion

Zur Zeit besteht eine diagnostische Lücke bei der Darstellung des Harnleiters in der klinischen Routine, da bisher kein etabliertes Bildgebungsverfahren die Darstellung der einzelnen Harnleiterwandschichten in Echtzeit und ohne Zerstörung des Gewebezusammenhangs leisten kann [39].

Zur Untersuchung des Harnleiters auf pathologische Prozesse stehen zum einen nicht-invasive Bildgebungsverfahren zur Verfügung. Sonographie, Ausscheidungsurographie, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT), zum anderen die Endoskopie- gestützten Bildgebungsverfahren retrograde Pyeloureterographie und Ureterorenoskopie mit der Option einer Zytologie- oder Biopsieentnahme. Während die Sonographie aufgrund der unvollständigen Darstellung insbesondere des normalen Harnleiters nur für einen ersten Eindruck geeignet ist [42], ist das Ausscheidungsurogramm (AUR) eine Methode der ersten Wahl zur Darstellung der Anatomie des Ureters, da es Kalibersprünge des Harnleiterlumens, Kontrastmittelaussparungen, sowie röntgendichte Harnleitersteine oder Tumorverkalkungen anzeigt [65]. Durch eine CT- bzw. MRT-Untersuchung können diese Befunde weiter differenziert werden, da sich diese beiden Verfahren gut eignen, um den oberen Harntrakt und seine umgebenden anatomischen Strukturen abzubilden. Jedoch sind deren räumliche Auflösung in der klinischen Standardanwendung typischerweise auf wenige Millimeter beschränkt [21] und auch in verschiedenen Spezialuntersuchungen wie CT-Urographie und MRT-Urographie gelingt es nicht, z.B. Urothelkarzinome mit ausreichender Sensitivität und Spezifität in ihrer Ausdehnung in der Harnleiterwand gerade in oberflächlichen Stadien (Ta, Tis, T1) zu stagen [48, 73]. Im Gegensatz dazu ermöglichen endoskopische Verfahren wie die ante- und retrograde Ureterorenoskopie die Darstellung der Oberfläche der Urothelschicht und intraluminaler Prozesse [49], können aber keine tiefer gelegenen Gewebeschichten abbilden.

Diese diagnostische Lücke zwischen Methoden, die einen niedrig aufgelösten Überblick über die Harnleiterwandstruktur geben und Methoden, die die Oberfläche der Harnleiterwand abbilden, ist klinisch relevant. Eine Methode, die eine hoch aufgelöste Abbildung der Harnleiterwandschichten und damit eine Differenzierung zwischen benignen und malignen Veränderungen des Harnleiters, eine Beurteilung des Invasionsstadiums maligner Erkrankungen inklusive der Überwachung von Biopsieentnahmen, sowie die Führung und Überwachung von Therapiemaßnahmen, in Echtzeit ermöglichen kann, wäre wünschenswert. Unsere Untersuchungen zeigen, dass die OCT in der Lage sein könnte, zum Schließen dieser diagnostischen Lücke beizutragen.

7.1 Diskussion der Ergebnisse

7.1.1 Deskriptive Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Harnleiterwand von Hausschweinen in OCT-Querschnittsbildern in charakteristischer Weise abgebildet wird. Die OCT-Querschnittsbilder zeigten dabei mehrere unterschiedlich stark reflektierende Schichten. Eine Zuordnung der einzelnen Schichten zu ihrem histologischen Korrelat war gut möglich: Urothel (mäßig reflektierend, geringe Helligkeit), Lamina propria (stark reflektierend, sehr hell) und Tunica muscularis (schwach reflektierend, dunkel). Vereinzelt ließen sich in den einzelnen Schichten Unterschichten, Kapillaren oder sogar einzelne Zellkomplexe abgrenzen.

Unsere Ergebnisse gehen dabei mit den von Daniltchenko et al. 2006 [19] gemachten Beobachtungen zum Reflexverhalten der Harnblasenwand in der OCT konform. Daniltchenko et al. [19] führten ihre Versuche *in vivo* mit einem speziell entwickelten, starren OCT-Gerät durch, das mit einem Zystoskop gekoppelt wurde. Der histologische Aufbau der Wand-schichten des Harnleiters ist dem der Harnblase sehr ähnlich.

Das unterschiedliche Reflexmuster könnte sich aus der verschiedenartigen Zusammensetzung der histologischen Schichten und Strukturen ergeben. Wie in OCT- Studien an Koronararterien und peripheren Venen gezeigt werden konnte, führt ein höherer Anteil kollagener und elastischer Fasern zu einem intensiveren Reflexverhalten des Gewebes [60, 77, 89]. Die von uns beobachtete intensive Helligkeit der Lamina propria könnte daher auf den hohen Bindegewebsanteil dieser Schicht zurückzuführen sein. Auf der anderen Seite weist Blut ein Absorptionsmaximum für das von der OCT verwendete NIR-Licht auf, was dazu führt, dass z.B. Kapillaren dunkel erscheinen [70].

7.1.2 Quantitative Analyse: OCT und digitale Lichtmikroskopie

Die Ergebnisse unserer Studie implizieren, dass die intraluminale OCT-Einheit, die hier im Lumen des Harnleiters zum Einsatz kam, verlässlich verschiedene Schichten der Wand eines normalen Schweineharnleiters *ex vivo* abbildet. Es war in allen ausgewerteten Quadran-

ten grundsätzlich möglich, einzelne Schichten der Harnleiterwand voneinander abzugrenzen. Die zwei unabhängigen Beobachter, die sowohl über unterschiedliche fachliche Spezialisierung als auch Erfahrungsstufen verfügten, stimmten darin überein, dass sich in 96% der OCT-Bilder gerade die wichtige Unterscheidung zwischen Urothel und Lamina propria treffen ließ.

Die Unterscheidung zwischen tieferen Schichten der Harnleiterwand mithilfe der OCT erschien etwas weniger zuverlässig möglich. Bei der Frage nach einer Abgrenzbarkeit der Lamina propria von der Tunica muscularis bewertete Beobachter O1 in 79% der Quadranten eine Unterscheidung als möglich, Beobachter O2 in 67% der Quadranten. Die zwei Beobachter stimmten dabei in 50% der OCT-Bilder überein.

Bei der Frage nach einer Unterscheidbarkeit der inneren von der äußeren Muskelschicht differierten die beiden Beobachter allerdings sehr stark. Während Beobachter O1 eine Unterscheidung zwischen diesen Schichten in etwa der Hälfte der Quadranten (54%) treffen konnte, konnte Beobachter O2 eine derartige Unterscheidung nicht treffen.

Die Unterscheidung von Lamina propria und Tunica muscularis erscheint also weniger gut möglich als die Abgrenzung des Urothels von der Lamina propria. Der Hauptgrund für die schlechtere Unterscheidbarkeit von Lamina propria und Tunica muscularis besteht vermutlich darin, dass die zunehmende Streuung und Absorption im Gewebe die Eindringtiefe und damit die Beurteilbarkeit lumenferner Schichten einschränkt.

Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass wir in unserer Studie ein intraluminales, sondenbasiertes OCT-Gerät verwendeten. Die OCT-Sonde ist im Vergleich zum Lumen des Harnleiters sehr klein (Sondendurchmesser: 0,4 mm, Harnleiterlumendurchmesser: ca. 3 mm). Die mögliche Eindringtiefe reduziert sich also um den Abstand der Sonde von der inneren Harnleiteroberfläche. Da die Sonde während des Scanvorgangs im Lumen rotiert, bleibt ihr Abstand zur Harnleiterwand nicht immer konstant. Daraus ergibt sich, dass die Sonde der Harnleiterwand mal sehr eng anliegt, mal weiter von ihr entfernt ist. Liegt die Sonde der Harnleiterwand unmittelbar an, ist eine Unterscheidung der lumenfernen Schichten wegen der vollen Ausnutzung der Eindringtiefe oft möglich. Ist die Sonde weiter von der zu untersuchenden Harnleiterwandstelle entfernt, sind die lumennahen Wandschichten leicht zu differenzieren. Es dürfte dann vermutlich aufgrund der um den Abstand der Sonde von der Harnleiterwand reduzierten Eindringtiefe allerdings schwerer fallen, die lumenfernen Schichten zu differenzieren. Aus denselben Gründen dürfte eine Unterscheidung zwischen Lamina muscularis interna und externa sowie eine Abgrenzung der Tunica muscularis zur Tunica adventitia schwierig sein.

In der Literatur wird für die OCT ein Auflösungsbereich von 4-20 μm angegeben [40]. Vor diesem Hintergrund wurde eine Unterscheidbarkeit einzelner Urothelzellreihen evaluiert. Während Beobachter O1 in 54% der Quadranten einzelne Zellreihen unterscheiden konnte, erschien Beobachter O2 diese Unterscheidung nicht möglich.

Von D'Amico et al. [18] konnte gezeigt werden, dass es mithilfe eines Aufsatz-OCT-Gerätes mit einer Auflösung von 10 μm möglich ist, die histopathologische Struktur von Prostatagewebe mit limitiertem Tumorbefall bis zu einer Eindringtiefe von 0,5 mm darzustellen. Sie konnten jedoch nicht die theoretisch mögliche Auflösung ihres Gerätes voll ausschöpfen. So ist es typischerweise auch in der Lichtmikroskopie nicht möglich, Strukturen optisch aufzulösen, deren Größe gerade an der Grenze der vom Instrument erzielten Auflösung liegt, da für den Betrachter zur visuellen Abgrenzbarkeit jeweils mehrere Bildelemente (Pixel) pro Struktur nötig sind [18]. Dass Beobachter O1 dennoch einzelne Zellen der Urothelschicht abgrenzen konnte, könnte auf eine von Desgrandchamps et al. [20] beschriebene Eigenart des Schweineharnleiters zurückzuführen sein. Der Harnleiter des großen weißen Hausschweins besitzt demnach, wie der menschliche Harnleiter, fünf bis sechs Zellreihen Urothel und ist daher grundsätzlich als Tiermodell des Harnleiters geeignet. Desgrandchamps et al. [20] konnten als Besonderheit im Schweineharnleiter aber die Existenz großer muzinöser Zellen nachweisen, welche die Urothelzellen an Größe deutlich übertreffen. Somit könnten diese muzinösen Zellen in den Auflösungsbereich des von uns verwendeten OCT-Geräts fallen und von Beobachter O1 als einzelne Urothelzellen interpretiert worden sein.

Die Beurteilungsunterschiede von O1 und O2 in dieser Frage ist möglicherweise aber auch auf die unterschiedliche fachliche Spezialisierung (Radiologie bzw. Urologie) der Beobachter zurückzuführen, die eine unterschiedliche Schwerpunktsetzung bei der Bildbeurteilung mit sich bringen könnte.

7.1.3 Morphometrische Untersuchung

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass eine Schichtdickenmessung der Wandschichten von Schweineharnleitern *ex vivo* mithilfe der OCT grundsätzlich möglich ist. Dies gilt für Urothel, Lamina propria und Tunica muscularis in unterschiedlicher Ausprägung. Im Vergleich zur Schichtdickenmessung in den korrelierenden histologischen Schnitten ergeben sich folgende Abweichungen:

Für das Urothel ergibt sich eine geringe, aber signifikante Überschätzung der Schichtdicke in der OCT im Vergleich zur digitalen Lichtmikroskopie. Dies könnte auf eine Schrumpfung

des Gewebes bei der Anfertigung des histologischen Präparats vor einer lichtmikroskopischen Untersuchung zurückzuführen sein (Artefakt).

Im Fall der Lamina propria zeigt sich eine signifikante Unterschätzung der Schichtdicke in der OCT gegenüber der Lichtmikroskopie. Jedoch war bei der Lamina propria eine gewisse Diskrepanz zwischen den beiden Beobachtern zu erkennen. Die Dicke dieser Schicht ist bei entspannter Harnleiterwand auf Grund von Faltenbildungen sehr unterschiedlich, was die Uneinheitlichkeit der Messwerte sowohl in der OCT als auch in der Lichtmikroskopie erklären mag.

Die Messung der Schichtdicke der Tunica muscularis in der OCT stimmte zwar im Mittel gut mit der histologisch bestimmten Schichtdicke überein. Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Messungen beider Beobachter. Dies könnte Ausdruck der begrenzten Eindringtiefe der OCT durch den zunehmenden Kontrastverlust des reflektierten Lichtsignals im Gewebe aufgrund der zunehmenden Streuung und Absorption sein [26].

Die Interobserverabweichung war sowohl in OCT als auch in der Lichtmikroskopie signifikant hoch. Die Wahl der Messpunkte, aber auch die individuelle Wahrnehmung der Grenzen zwischen den einzelnen Schichten durch die Beobachter erfolgte letztendlich subjektiv. Eine gewisse Schwäche der Interobserverübereinstimmung stellt ein häufiges Problem hochdifferenzierter Bildgebungsmethoden dar [61]. Es bleibt zu zeigen, ob sich z.B. durch einen reproduzierbaren computerbasierten Diagnosealgorithmus, wie für die Anwendung der OCT in der Harnblase bereits getestet [54], das subjektive Element in der OCT-Bildbetrachtung möglicherweise reduzieren lassen könnte.

Die Intraobserverübereinstimmung war für das Urothel signifikant gegeben, für Lamina propria bzw. Tunica muscularis jedoch nicht bzw. nur eingeschränkt, was wiederum auf die Schwierigkeit der Festlegung der Messpunkte sowohl in OCT als auch in Lichtmikroskopie hinweist. Auch bei der Intraobserverübereinstimmung mögen die Probleme des zunehmenden Kontrastverlustes in der Gewebetiefe generell, aber auch der starke Signalreflektionseffekt an der Lamina propria eine exakte optische Abgrenzung gerade der tieferen Schichten erschweren [26, 41].

Eine Wiederholung der OCT-Sondenpositionierung ergab eine signifikant hohe Übereinstimmung bei der Schichtdickenmessung, abgesehen von der Beurteilung der Tunica muscularis durch einen Beobachter. Damit zeigt sich bei der OCT eine hohe Reproduzierbarkeit der Bilddaten für bestimmte Schichtpositionen. Es ergibt sich, dass derselbe Be-

obachter dieselbe Schichteinstellung mit sehr ähnlichem Ergebnis für die Darstellung des Wandaufbaus im Schweineharnleiter im OCT-Schnittbild wiederherstellen kann. Daraus folgt, dass die Beobachtungen jedenfalls für denselben Beobachter grundsätzlich gut reproduzierbar sind. Auch wenn zu zeigen bleibt, dass es im menschlichen Harnleiter und Nierenbeckenkelchsystem gelingt, Läsionen von möglicherweise geringer räumlicher Ausdehnung gezielt wiederholt darzustellen, lassen diese Beobachtungen am Schweineharnleiter *ex vivo* immerhin annehmen, dass dies gelingen könnte. Da zudem die Schichtdicke des Urothels wenigstens für denselben Beobachter zuverlässig reproduzierbar war (genauso gut oder schlecht wie in der Lichtmikroskopie), gelingt es offenbar zuverlässig, die Grenze zwischen Urothel und Lamina propria zu erkennen. Dies ist eine wichtige grundlegende Beobachtung, da dem Erkennen von tumorbedingten Harnleiterläsionen in einem möglichst frühzeitigen Stadium, also vor dem Überschreiten der Basalmembran zwischen Urothel und Lamina propria, in der klinischen Praxis eine hohe Bedeutung zukommt. So beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate bei Urothelkarzinomen des Harnleiters bisher bei oberflächlichen Karzinomen (Ta) 100% und sinkt bei Infiltration subepithelialen Gewebes (T1) auf 91,7%, bei Infiltration der Tunica muscularis auf 72,6% [80]. Der Mangel an Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Beobachtern in OCT und Lichtmikroskopie rückt beide Verfahren in den Bereich der Bildgebungsverfahren mit anspruchsvoller Beurteilung [61].

7.1.4 Quantitativer Vergleich: OCT und ELUS

Für unsere Untersuchungen zum Vergleich von optischer Kohärenztomographie und endoluminalem Ultraschall wandten wir die gleichen Unterscheidungskriterien an wie für den quantitativen Vergleich von OCT-Bildern und Lichtmikroskopie (vgl. 5.4.1).

Bei der Auswertung der für den Vergleich von OCT und ELUS aufgenommenen OCT-Bilder konnten die Beobachter O1 und O2 zuverlässig und übereinstimmend zwischen verschiedenen Wandschichten des Harnleiters unterscheiden. Ebenfalls konnten sie sicher und mit guter Übereinstimmung zwischen Urothel und Lamina propria unterscheiden, wie auch zwischen Lamina propria und Lamina muscularis. Beobachter O1 fand es möglich, Lamina muscularis interna und externa sowie einzelne Zellreihen innerhalb der Urothelschicht zu differenzieren, O2 gelang dies nicht (vgl. Tabelle 2). Die in dem vorangehenden Versuch zum quantitativen Vergleich von OCT und Lichtmikroskopie gewonnenen Ergebnisse bestätigen sich hier.

Bei der Auswertung der ELUS-Bilder konnten O1 und O2 lediglich in ungefähr der Hälfte der Bilder zwischen verschiedenen Wandschichten des Harnleiters unterscheiden, wobei sie bei dieser Einschätzung weitgehend übereinstimmten. Eine Abgrenzbarkeit von Urothel und Lamina propria war im ELUS nicht möglich. Zwischen der Lamina propria und der Tunica muscularis konnten sie in etwas weniger als der Hälfte der Bilder unterscheiden, wiederum bei Übereinstimmung der Beobachter. Eine Differenzierung von Lamina muscularis interna und externa sowie einzelner Zellen innerhalb der Urothelschicht konnte weder O1 noch O2 in den ELUS- Bildern vornehmen (vgl. Tabelle 2).

Ingram et al. [42] berichteten darüber, in ELUS-Bildern des Harnleiters drei Schichten erkennen zu können: eine innere Schicht (bestehend aus Urothel und Lamina propria, nicht voneinander abgrenzbar), die Tunica muscularis und die Tunica adventitia. Sie verwendeten für ihre Untersuchungen allerdings Schallköpfe mit 12,5 bzw. 20 MHz mit einer Eindringtiefe von etwa 15-40 mm und einer axialen Auflösung von bis zu 100 µm. Wie bei Ingram et al. [42] konnten auch in unserer Untersuchung in ELUS-Bildern Urothel und Lamina propria nicht voneinander abgegrenzt werden, obwohl wir mit einem 40 MHz-Schallkopf mit höherer axialer Auflösung von etwa 40 µm [90] arbeiteten.

Unsere Daten weisen darauf hin, dass die OCT dem ELUS bei der Abgrenzung der verschiedenen Harnleiterwandschichten durchaus überlegen ist. Dies gilt vor allem für die Unterscheidung von Urothel und Lamina propria, welche in unserer Studie in der OCT gut möglich war, im ELUS dagegen nicht. Auch zwischen Lamina propria und Tunica muscularis konnte mit der OCT sicherer unterschieden werden als mit dem ELUS.

Gerade die Unterscheidung zwischen den genannten drei Harnleiterwandschichten dürfte eine wichtige Voraussetzung für die klinische Anwendung intraluminaler Bildgebungsmethoden zur Diagnostik von benignen und malignen Veränderungen im Ureter sein. Mit Ausnahme der Lichtmikroskopie, die jedoch eine Probenbiopsie des zu untersuchenden Gewebes voraussetzt, ist keine andere Bildgebungsmethode bisher in der Lage, eine Differenzierung der Harnleiterwandschichten mit einer der OCT vergleichbaren Auflösung und Sicherheit zu leisten.

7.2 Limitationen der OCT

Wie *ex vivo*- Studien im Allgemeinen weisen auch die von uns durchgeführten Untersuchungen gewisse Limitationen auf, die bei der Interpretation der Ergebnisse, auch im Hinblick auf weiterführende *in vivo*- Studien, berücksichtigt werden müssen.

Zunächst führten wir unsere Untersuchungen unter den optimalen Bedingungen einer Laborumgebung durch. Die Präparate wurden vor der Untersuchung von eventuell störenden Anhangsgeweben befreit. Der Versuchsaufbau wurde so gestaltet, dass ein leichter Zugang zur jeweiligen Untersuchungsstelle gewährleistet war. Mittels einer manuellen Spülung mit Kochsalzlösung wurde das Lumen des Harnleiters in einem für die OCT-Untersuchung günstigen Durchmesser (mittlerer Füllungszustand) gehalten.

Eine weitere Einschränkung resultiert daraus, dass die Harnleiterpräparate von jungen, gesunden, frisch geschlachteten Mastschweinen stammten. Der Schweineharnleiter ist aufgrund seines histologischen Wandaufbaus grundsätzlich als Modell des menschlichen Harnleiters geeignet. Als histologische Abweichung sind im Schweineharnleiter allerdings zusätzlich regelhaft muzinöse Zellen in der Urothelschicht vorhanden [20]. Die postmortale Ischämie könnte zu Strukturveränderungen im Gewebe führen. Jedoch betrug in unserer Studie das Zeitintervall zwischen der Schlachtung der Tiere und den vorgenommenen Untersuchungen maximal drei Stunden, weshalb Veränderungen von Struktur und optischen Eigenschaften der Harnleiterwand eher gering sein sollten.

Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die verwendeten Bildgebungsmethoden Lichtmikroskopie, OCT und ELUS verschiedene laterale Auflösungen besitzen. Die laterale optische Auflösung beträgt in der Lichtmikroskopie etwa 4 μm , in der OCT 10-20 μm und im ELUS bis zu 300 μm [70].

Eine wesentliche Limitation bei der Anwendung der OCT als Bildgebungsmethode im Harnleiter besteht in der beschränkten Eindringtiefe des in der OCT verwendeten NIR-Lichts im Gewebe. Zum gegenwärtigen Entwicklungsstand beträgt diese bei einer verwendeten Wellenlänge von 1300 nm etwa 2 mm im optisch streuenden Medium [40]. Da die Dicke der Harnleiterwand je nach Füllungszustand 2-4 mm beträgt, ist eine Beurteilung der äußeren Harnleiterwandschichten mit der OCT nur eingeschränkt möglich. Die Darstellung der Grenze zwischen Tunica muscularis und adventitia, der Tunica adventitia und der den Ureter umgebenden Strukturen ist nicht verlässlich möglich. Dies könnte die Möglichkeiten der OCT bei der Abklärung pathologischer Prozesse (z.B. Tumor-Staging) in diesem Bereich begrenzen.

zen. Ein zusätzliches Problem bei der Beurteilung des Tumorinvasionsstadiums könnte dabei eine mögliche Änderung der optischen Eigenschaften durch eine Verschiebung des Zellkern-Zellplasma Verhältnisses [83] im tumorös veränderten Gewebe darstellen.

7.3 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die kathetergestützte intraluminale OCT verlässlich die verschiedenen Wandschichten eines normalen Schweineharnleiters *ex vivo* in charakteristischer Weise abbildet. Eine Differenzierung der einzelnen histologischen Schichten ist möglich. Gerade die Abgrenzung zwischen Urothelschicht und Lamina propria ist meist sicher zu treffen. Eine Unterscheidung der tieferen Schichten erscheint weniger sicher möglich zu sein.

Auch eine Schichtdickenmessung der Harnleiterwand mithilfe der OCT ist, mit den unter 7.2 aufgeführten Einschränkungen, recht zuverlässig möglich und die Messwerte sind mit denen der digitalen Lichtmikroskopie vergleichbar.

Unsere Daten weisen darauf hin, dass die OCT der endoluminalen Sonographie bei der Abgrenzung der Harnleiterwandschichten und vor allem bei der Unterscheidung von Urothel und Lamina propria deutlich überlegen ist.

Anders als bei den bisher etablierten Methoden zur Darstellung von Läsionen des oberen Harntrakts könnte es mithilfe der intraluminalen OCT möglich sein, die Eindringtiefe von Veränderungen des Urothels über die Basalmembran hinaus zu beurteilen, ohne dass hierfür eine Biopsieentnahme nötig wäre [25]. Eine wichtige klinische Anwendungsmöglichkeit der OCT bei der Diagnostik von Harnleiterwandprozessen könnte darüber hinaus in der Präzisierung von Probiopsien bestehen. Im Hinblick auf Grundlagenforschung und Verlaufsdagnostik könnte die OCT eine Beobachtung von Harnleiterwandprozessen in ihrer zeitlichen Entwicklung ermöglichen. Im Zuge der Entwicklung minimal-invasiver Operationsmethoden zur Therapie von Erkrankungen des Ureters (z. B. ureterskopisch geführte Laserchirurgie bei Urothelkarzinomen [2]) kommt einer hoch aufgelösten Darstellung der Harnleiterwand, wie sie die OCT leisten könnte, besondere Bedeutung zu. Für ein besonders zuverlässiges Tumorstaging, für die Steuerung des Eingriffs selbst, wie auch für die Therapiekontrolle bei derartigen Operationen könnte die OCT Anwendung finden [26].

Bei den in der klinischen Routine verwendeten Bildgebungsverfahren zur Darstellung des oberen Harntrakts besteht derzeit eine diagnostische Lücke, denn eine Beurteilung der ver-

schiedenen Schichten der Harnleiterwand mit einer hohen, der Histologie vergleichbaren Auflösung erfordert bisher eine Biopsieentnahme [39]. Sicherlich müssen die Ergebnisse unserer *ex vivo* Untersuchungen durch weitere Studien an humanen Ureterpräparaten *ex vivo* und in Tiermodellen *in vivo* validiert und erweitert werden, bevor die intraluminale katheterbasierte OCT Eingang in die klinische Diagnostik finden kann. Es muss gezeigt werden, dass die OCT in der Lage ist, *in vivo* Prozesse der Harnleiterwand verlässlich aufzufinden, räumlich zuzuordnen und in ihrer Ausdehnung und histopathologischen Qualität darzustellen [62]. Doch unsere Untersuchungen weisen darauf hin, dass die OCT in der Lage sein könnte, im Sinne einer optischen Biopsie [76] die bestehende diagnostische Lücke in Zukunft zu schließen.

8 Zusammenfassung

Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein neues Verfahren zur Erzeugung von zwei- und dreidimensionalen Schnittbildern mit einer Auflösung von 4-20 μm in Echtzeit und *in vivo* [62]. Seit ihrem ersten experimentellen Einsatz durch Fujimoto et al. 1991 [41] fand die OCT vielfach Eingang in die klinische Forschung und Diagnostik [93]. Forschungsansätze zur möglichen Anwendung der OCT im Bereich der Urologie konzentrierten sich bisher auf die Darstellung der Harnblasenwand [47, 54, 91]. In unserer Untersuchung wird die intraluminale katheterbasierte OCT als Methode zur hochauflösenden Schnittbildgebung im Harnleiter *ex vivo* etabliert und ihr Potential zur Darstellung der Harnleiterwandschichten evaluiert.

Es wurden Harnleiterpräparate von kurz zuvor geschlachteten Schweinen angefertigt, mit einem Schleusensystem versehen und mit 0,9%iger Kochsalzlösung gespült. Mit einer intraluminalen katheterbasierten OCT-Sonde (Durchmesser 0,4 mm, Wellenlänge 1300 ± 20 nm) wurden an markierten Stellen Querschnittsbilder der Harnleiterpräparate aufgenommen. Die Präparate wurden anschließend in 4%iger Formalinlösung fixiert; an den markierten Stellen wurden nach histologischem Standardverfahren Hämatoxylin/ Eosin gefärbte Schnitte angefertigt, die mit einem computergekoppelten Lichtmikroskop (LM, Vergrößerung 40-100fach) digital abfotografiert und vermessen wurden. Des Weiteren wurden mit einer endoluminalen Ultraschallsonde (ELUS, Frequenz 40 MHz, Durchmesser 2.7 F) im Rückzugverfahren Videobildströme von Harnleiterpräparaten aufgenommen. Zwei unabhängige Beobachter (O1 und O2 bzw. O3 und O4) bewerteten jeweils die Bilder, die zur Objektivierung der Beurteilung in Bildquadranten unterteilt wurden.

In der OCT-Darstellung der Schweineharnleiterwand zeigte sich eine charakteristische Dreischichtung: Eine innere, mäßig reflektierende Schicht (Urothel), eine mittlere, intensiv reflektierende Schicht (Lamina propria) und eine äußere, schwach reflektierende Schicht (Tunica muscularis).

Für den quantitativen Vergleich von OCT und Lichtmikroskopie standen sechs Präparate (24 Bildquadranten) Verfügung. Mit der OCT konnten die Beobachter (O1,O2) verschiedene Harnleiterwandschichten in allen Bildquadranten unterscheiden; Urothel von Lamina propria konnten O1/O2 in 23/24, Lamina propria von Tunica muscularis in 19/16, Lamina muscularis interna von externa in 13/0 und einzelne Zellen in der Urothelschicht in 13/2 OCT-Bildquadranten unterscheiden. Dies impliziert, dass die OCT verlässlich verschiedene

Wandschichten des Schweineharnleiters *ex vivo* abbildet, wobei gerade die wichtige Unterscheidung zwischen Urothel und Lamina propria sicher zu treffen war.

Bei der morphometrischen Untersuchung (elf Präparate) wurde von den Beobachtern O3 und O4 in der OCT gegenüber der LM die Schichtdicke des Urothels im Mittel überschätzt (OCT $0,08 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$, LM $0,06 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$, $p= 0,0001$), die Schichtdicke der Lamina propria wurde unterschätzt (OCT $0,20 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$, LM $0,25 \text{ mm} \pm 0,09 \text{ mm}$, $p= 0,0291$) und für die Schichtdicke der Tunica muscularis ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Methoden (OCT $0,46 \text{ mm} \pm 0,15 \text{ mm}$, LM $0,47 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$, $p= 0,7080$). Eine Messung der Dicke der einzelnen Harnleiterwandschichten mithilfe der OCT ist also grundsätzlich möglich und liefert der Histologie vergleichbare Werte.

Bei dem qualitativen Vergleich von OCT und endoluminaler Sonographie konnten an acht *ex vivo* Harnleiterpräparaten insgesamt 224 OCT-Bildquadranten und 144 ELUS-Bildquadranten beurteilt werden. Bei der Unterscheidung verschiedener Harnleiterwandschichten durch die Beobachter O1 und O2 war die OCT dem ELUS überlegen (Anzahl von OCT/ELUS Bildquadranten, in denen die Beobachter Schichten unterscheiden konnten, Chi-Quadratstest, p-Wert: O1: 199/71, 68.1051, <0.001 ; O2: 200/73, 66.1630, <0.001). Auch bei der Abgrenzbarkeit des Urothels von der Lamina propria (O1: 170/0, 200.0750, <0.001 ; O2: 191/3, 240.0024, <0.001) und bei der Abgrenzbarkeit der Lamina propria von der Tunica muscularis (O1: 181/71, 38.8411, <0.001 ; O2: 159/64, 24.7536, <0.001) war die OCT dem ELUS überlegen. Für die Abgrenzung von Lamina muscularis interna von externa (O1: 194/0, 260.3004, <0.001 , O2: 7/2, 0.4992, >0.25), bzw. bei der Unterscheidung einzelner Zellen in der Urothelschicht (O1: 159/0, 177.0943, <0.001 ; O2: 6/0, 2.4288, >0.10) ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den Beobachtern. In dieser Arbeit ergab sich, dass die intraluminale OCT gegenüber der endoluminalen Sonographie bei der Beurteilung besonders der inneren Wandschichten des Harnleiters große Vorteile aufweist.

Bei den in der klinischen Routine verwendeten Bildgebungsverfahren zur Darstellung des oberen Harntrakts besteht derzeit eine diagnostische Lücke, denn eine Beurteilung der verschiedenen Schichten der Harnleiterwand mit einer hohen, der Histologie vergleichbaren Auflösung erfordert bisher eine Biopsieentnahme [39]. Sicherlich müssen die Ergebnisse unserer *ex vivo* Untersuchungen durch weitere Studien an humanen Ureterpräparaten *ex vivo* und in Tiermodellen *in vivo* validiert und erweitert werden, bevor die intraluminale OCT Eingang in die klinische Diagnostik finden kann [62]. Doch unsere Untersuchungen weisen darauf hin, dass die OCT in der Lage sein könnte, im Sinne einer optischen Biopsie die bestehende diagnostische Lücke in Zukunft zu schließen.

9 Anhang

Tabelle 3 Urothelschichtdickenmessung. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte (MW) der mehrmals, über den Schnitt verteilt gemessenen Schichtdicken in OCT- und lichtmikroskopischen (LM) Bildern. Es ist jeweils die Standardabweichung (StW) der Messwerte der vier Quadranten vom Mittelwert angegeben. Die Angabe der Messwerte erfolgt für die Beobachter O3 und O4 einzeln und für O3+O4. A: Untersuchung bei ursprünglicher Sondenposition, B: Wiederholung der Untersuchung nach Sondenrückzug und -wiedervorschub zur ursprünglichen Position. D1: Erster Messdurchgang, D2: Wiederholung der Messungen nach mindestens vier Wochen.

A	O3	OCT				LM		O4	OCT				LM	
		D1		D2		MW	StW		D1		D2		MW	StW
		MW	StW	MW	StW				MW	StW	MW	StW		
n_01	0,09	0,01	-	-	0,07	0,01	n_01	0,06	0,02	-	-	0,03	0,01	
n_02	0,10	0,01	-	-	0,08	0,01	n_02	0,07	0,00	-	-	0,07	0,01	
n_03	0,10	0,01	0,10	0,02	0,07	0,01	n_03	0,07	0,02	0,07	0,01	0,06	0,01	
n_04	0,11	0,02	0,11	0,02	0,07	0,02	n_04	0,06	0,00	0,05	0,00	0,07	0,01	
n_05	0,11	0,02	-	-	0,06	0,01	n_05	0,07	0,02	0,08	0,05	0,04	0,02	
n_06	0,10	0,03	0,08	0,01	0,06	0,01	n_06	-	-	0,05	0,01	0,04	0,01	
s_01	0,09	0,02	0,09	0,01	-	-	s_01	0,06	0,01	0,05	0,02	0,04	0,01	
s_02	0,09	0,01	0,07	0,00	0,07	0,01	s_02	0,08	0,01	0,08	0,03	0,05	0,01	
s_03	0,09	0,00	0,09	0,01	0,09	0,02	s_03	0,07	0,01	0,06	0,02	0,03	0,01	
s_04	0,07	0,02	0,10	0,01	0,06	0,01	s_04	0,06	0,02	0,07	0,01	0,04	0,02	
s_05	0,09	0,01	0,10	0,02	0,07	0,01	s_05	0,07	0,01	0,07	0,02	0,05	0,01	
Gesamt	0,10	0,01	0,09	0,01	0,07	0,01	Gesamt	0,07	0,01	0,06	0,02	0,05	0,01	

B	O3	OCT				LM		O4	OCT				LM	
		D1		D2		MW	StW		D1		D2		MW	StW
		MW	StW	MW	StW				MW	StW	MW	StW		
n_01	0,08	0,01	-	-	0,07	0,01	n_01	0,07	0,01	-	-	0,03	0,01	
n_02	0,07	0,00	-	-	0,08	0,01	n_02	0,07	0,00	-	-	0,07	0,01	
n_03	0,09	0,02	0,10	0,01	0,07	0,01	n_03	0,07	0,01	0,07	0,01	0,06	0,01	
n_04	0,10	0,01	0,10	0,02	0,07	0,02	n_04	0,08	0,01	0,06	0,01	0,07	0,01	
n_05	0,13	0,02	0,14	0,01	0,06	0,01	n_05	0,08	0,06	0,06	0,06	0,04	0,02	
n_06	0,11	-	0,09	-	0,06	0,01	n_06	0,06	0,01	0,04	0,00	0,04	0,01	
s_01	0,08	0,01	0,08	0,01	-	-	s_01	0,06	0,02	0,06	0,01	0,04	0,01	
s_02	0,09	0,01	0,08	0,02	0,07	0,01	s_02	0,07	0,01	0,07	0,01	0,05	0,01	
s_03	0,08	0,01	0,09	0,02	0,09	0,02	s_03	0,06	0,02	0,05	0,02	0,03	0,01	
s_04	0,08	0,01	0,08	0,01	0,06	0,01	s_04	0,06	0,01	0,06	0,01	0,04	0,02	
s_05	0,11	0,02	0,10	0,01	0,07	0,01	s_05	0,06	0,03	0,06	0,02	0,05	0,01	
Gesamt	0,09	0,01	0,10	0,01	0,07	0,01	Gesamt	0,07	0,02	0,06	0,02	0,05	0,01	

A	O3+O4	OCT				LM		B	O3+O4	OCT				LM	
		D1		D2		MW	StW			D1		D2		MW	StW
		MW	StW	MW	StW					MW	StW	MW	StW		
n_01	0,08	0,02	-	-	0,05	0,03	n_01	0,08	0,01	-	-	0,05	0,03		
n_02	0,08	0,01	-	-	0,07	0,01	n_02	0,07	0,00	-	-	0,07	0,01		
n_03	0,08	0,02	0,09	0,02	0,06	0,00	n_03	0,08	0,02	0,08	0,02	0,06	0,00		
n_04	0,08	0,03	0,08	0,03	0,07	0,00	n_04	0,09	0,02	0,08	0,03	0,07	0,00		
n_05	0,09	0,03	0,08	0,05	0,05	0,01	n_05	0,10	0,05	0,10	0,05	0,05	0,01		
n_06	0,10	0,03	0,06	0,02	0,05	0,01	n_06	0,08	0,03	0,07	0,03	0,05	0,01		
s_01	0,08	0,02	0,07	0,03	-	-	s_01	0,07	0,02	0,07	0,01	-	-		
s_02	0,09	0,01	0,08	0,03	0,06	0,01	s_02	0,08	0,01	0,07	0,02	0,06	0,01		
s_03	0,08	0,01	0,07	0,02	0,06	0,04	s_03	0,07	0,02	0,07	0,03	0,06	0,04		
s_04	0,07	0,02	0,08	0,02	0,05	0,02	s_04	0,07	0,02	0,07	0,02	0,05	0,02		
s_05	0,08	0,02	0,09	0,02	0,06	0,01	s_05	0,09	0,04	0,08	0,03	0,06	0,01		
Gesamt	0,08	0,02	0,08	0,03	0,06	0,01	Gesamt	0,08	0,02	0,08	0,03	0,06	0,01		

Tabelle 4 Schichtdickenmessungen der Lamina propria. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte (MW) der mehrmals, über den Schnitt verteilt gemessenen Schichtdicken in OCT- und lichtmikroskopischen (LM) Bildern. Es ist jeweils die Standardabweichung (StW) der Messwerte der vier Quadranten vom Mittelwert angegeben. Die Angabe der Messwerte erfolgt für die Beobachter O3 und O4 einzeln und für O3+O4. A: Untersuchung bei ursprünglicher Sondenposition, B: Wiederholung der Untersuchung nach Sonderrückzug und -wiedervorschub zur ursprünglichen Position. D1: Erster Messdurchgang, D2: Wiederholung der Messungen nach mindestens vier Wochen.

		O3		OCT				LM				O4		OCT				LM			
				D1		D2								D1		D2					
				MW	StW	MW	StW							MW	StW	MW	StW				
A	n_01	0,16	0,02	-	-	0,12	0,02	0,13	0,02	-	-	0,32	0,17	0,14	0,01	-	-	0,11	0,03		
	n_02	0,16	0,04	-	-	0,16	0,05	0,14	0,01	0,21	0,06	0,24	0,20	0,25	0,07	0,25	0,06	0,31	0,20		
	n_03	0,17	0,01	0,16	0,03	0,14	0,01	0,25	0,07	0,23	0,02	0,30	0,14	0,25	0,07	0,23	0,02	0,30	0,14		
	n_04	0,19	0,03	0,22	0,03	0,15	0,03	0,25	0,08	0,25	0,06	0,31	0,20	0,23	0,02	0,23	0,02	0,27	0,09		
	n_05	0,21	0,02	0,23	0,03	0,20	0,05	0,23	0,02	0,21	0,05	0,27	0,09	0,23	0,02	0,21	0,05	0,27	0,09		
	n_06	0,23	0,03	0,24	0,03	0,22	0,04	0,23	0,02	0,21	0,05	0,27	0,09	0,23	0,02	0,21	0,05	0,27	0,09		
	s_01	0,19	0,04	0,21	0,05	0,21	0,07	0,21	0,07	0,17	0,03	0,39	0,17	0,21	0,07	0,17	0,03	0,39	0,17		
	s_02	0,21	0,03	0,21	0,03	0,25	0,07	0,27	0,08	0,23	0,10	0,32	0,11	0,21	0,03	0,23	0,10	0,32	0,11		
	s_03	0,20	0,04	0,20	0,06	0,20	0,08	0,20	0,01	0,19	0,02	0,32	0,17	0,20	0,04	0,19	0,02	0,32	0,17		
	s_04	0,20	0,02	0,20	0,02	0,16	0,06	0,20	0,04	0,17	0,02	0,40	0,15	0,20	0,02	0,17	0,02	0,40	0,15		
	s_05	0,19	0,02	0,20	0,04	0,27	0,07	0,20	0,04	0,19	0,01	0,40	0,17	0,19	0,01	0,19	0,01	0,40	0,17		
	Gesamt		0,19	0,03	0,21	0,03	0,19	0,05	0,21	0,05	0,20	0,04	0,31	0,15	0,21	0,05	0,20	0,04	0,31	0,15	

		O3		OCT				LM				O4		OCT				LM			
				D1		D2								D1		D2					
				MW	StW	MW	StW							MW	StW	MW	StW				
B	n_01	0,18	0,02	-	-	0,12	0,02	0,17	0,01	-	-	0,32	0,17	0,14	0,01	-	-	0,11	0,03		
	n_02	0,14	0,01	-	-	0,16	0,05	0,14	0,01	-	-	0,11	0,03	0,30	0,12	0,36	0,08	0,24	0,20		
	n_03	0,16	0,02	0,22	0,05	0,14	0,01	0,20	0,05	0,22	0,04	0,31	0,20	0,21	0,01	0,22	0,05	0,30	0,14		
	n_04	0,16	0,04	0,18	0,03	0,15	0,03	0,20	0,05	0,22	0,04	0,31	0,20	0,21	0,01	0,22	0,05	0,30	0,14		
	n_05	0,24	0,04	0,22	0,05	0,20	0,05	0,31	0,04	0,26	0,04	0,27	0,09	0,21	0,01	0,22	0,05	0,30	0,14		
	n_06	0,31	0,06	0,33	0,04	0,22	0,04	0,31	0,04	0,26	0,04	0,27	0,09	0,21	0,01	0,22	0,05	0,30	0,14		
	s_01	0,25	0,05	0,25	0,07	0,21	0,07	0,23	0,06	0,21	0,04	0,39	0,17	0,21	0,05	0,20	0,03	0,32	0,11		
	s_02	0,20	0,02	0,25	0,06	0,25	0,07	0,21	0,05	0,20	0,03	0,32	0,11	0,21	0,05	0,20	0,03	0,32	0,11		
	s_03	0,21	0,01	0,20	0,02	0,20	0,08	0,20	0,03	0,18	0,01	0,32	0,17	0,20	0,03	0,18	0,01	0,32	0,17		
	s_04	0,22	0,03	0,23	0,02	0,16	0,06	0,19	0,01	0,19	0,02	0,40	0,15	0,19	0,01	0,19	0,02	0,40	0,15		
	s_05	0,21	0,07	0,22	0,07	0,27	0,07	0,19	0,06	0,21	0,04	0,40	0,17	0,19	0,06	0,21	0,04	0,40	0,17		
	Gesamt		0,21	0,03	0,23	0,04	0,19	0,05	0,21	0,04	0,23	0,04	0,31	0,15	0,21	0,04	0,23	0,04	0,31	0,15	

		O3+O4		OCT				LM				O3+O4		OCT				LM			
				D1		D2								D1		D2					
				MW	StW	MW	StW							MW	StW	MW	StW				
A	n_01	0,15	0,02	-	-	0,22	0,14	0,17	0,02	-	-	0,22	0,14	0,23	0,11	0,29	0,10	0,19	0,07		
	n_02	0,15	0,03	-	-	0,14	0,04	0,14	0,01	-	-	0,14	0,04	0,18	0,05	0,20	0,04	0,23	0,11		
	n_03	0,21	0,06	0,18	0,05	0,19	0,07	0,23	0,06	0,18	0,05	0,19	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_04	0,22	0,07	0,23	0,05	0,23	0,11	0,23	0,06	0,23	0,02	0,25	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_05	0,23	0,06	0,23	0,02	0,25	0,07	0,23	0,06	0,23	0,02	0,25	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_06	0,23	0,02	0,22	0,04	0,25	0,03	0,31	0,05	0,30	0,06	0,25	0,03	0,23	0,02	0,22	0,05	0,25	0,07		
	s_01	0,20	0,05	0,19	0,04	0,3	0,13	0,24	0,05	0,23	0,06	n	0,13	0,24	0,05	0,23	0,06	n	0,13		
	s_02	0,24	0,06	0,22	0,07	0,28	0,05	0,21	0,03	0,22	0,05	0,28	0,05	0,21	0,03	0,22	0,05	0,28	0,05		
	s_03	0,20	0,03	0,20	0,04	0,26	0,09	0,20	0,02	0,19	0,02	0,26	0,09	0,20	0,02	0,19	0,02	0,26	0,09		
	s_04	0,20	0,03	0,19	0,03	0,28	0,17	0,21	0,03	0,21	0,03	0,28	0,17	0,21	0,03	0,21	0,03	0,28	0,17		
	s_05	0,20	0,03	0,19	0,03	0,34	0,09	0,20	0,06	0,21	0,05	0,34	0,09	0,20	0,06	0,21	0,05	0,34	0,09		
	Gesamt		0,20	0,04	0,21	0,04	0,25	0,09	0,21	0,04	0,23	0,05	0,24	0,09	0,21	0,04	0,23	0,05	0,24	0,09	

		O3+O4		OCT				LM				O3+O4		OCT				LM			
				D1		D2								D1		D2					
				MW	StW	MW	StW							MW	StW	MW	StW				
B	n_01	0,17	0,02	-	-	0,22	0,14	0,17	0,02	-	-	0,22	0,14	0,23	0,11	0,29	0,10	0,19	0,07		
	n_02	0,14	0,01	-	-	0,14	0,04	0,14	0,01	-	-	0,14	0,04	0,18	0,05	0,20	0,04	0,23	0,11		
	n_03	0,23	0,11	0,29	0,10	0,19	0,07	0,23	0,06	0,18	0,05	0,19	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_04	0,18	0,05	0,20	0,04	0,23	0,11	0,23	0,06	0,23	0,02	0,25	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_05	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07	0,23	0,06	0,23	0,02	0,25	0,07	0,23	0,03	0,22	0,05	0,25	0,07		
	n_06	0,31	0,05	0,30	0,06	0,25	0,03	0,31	0,05	0,30	0,06	0,25	0,03	0,23	0,02	0,22	0,05	0,25	0,07		
	s_01	0,24	0,05	0,23	0,06	0,28	0,05	0,24	0,05	0,23	0,06	0,28	0,05	0,24	0,05	0,23	0,06	0,28	0,05		
	s_02	0,21	0,03	0,22	0,05	0,26	0,09	0,21	0,03	0,22	0,05	0,26	0,09	0,21	0,03	0,22	0,05	0,26	0,09		
	s_03	0,20	0,02	0,19	0,02	0,26	0,09	0,20	0,02	0,19	0,02	0,26	0,09	0,20	0,02	0,19	0,02	0,26	0,09		
	s_04	0,21	0,03	0,21	0,03	0,28	0,17	0,21	0,03	0,21	0,03	0,28	0,17	0,21	0,03	0,21	0,03	0,28	0,17		
	s_05	0,20	0,06	0,21	0,05	0,34	0,09	0,20	0,06	0,21	0,05	0,34	0,09	0,20	0,06	0,21	0,05	0,34	0,09		
	Gesamt		0,21	0,04	0,23	0,05	0,24	0,09	0,21	0,04	0,23	0,05	0,24	0,09	0,21	0,04	0,23	0,05	0,24	0,09	

Tabelle 5 Schichtdickenmessungen der Tunica muscularis. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte (MW) der mehrmals, über den Schnitt verteilt gemessenen Schichtdicken in OCT- und lichtmikroskopischen (LM) Bildern. Es ist jeweils die Standardabweichung (StW) der Messwerte der vier Quadranten vom Mittelwert angegeben. Die Angabe der Messwerte erfolgt für die Beobachter O3 und O4 einzeln und für O3+O4. A: Untersuchung bei ursprünglicher Sondenposition, B: Wiederholung der Untersuchung nach Sonderrückzug und -wiedervorschub zur ursprünglichen Position. D1: Erster Messdurchgang, D2: Wiederholung der Messungen nach mindestens vier Wochen.

		O3		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
A	n_01	0,51	0,18			0,31	0,11		
	n_02	0,61	0,12			0,29	0,04		
	n_03	0,80	0,07	0,70	0,09	0,39	0,06		
	n_04	0,54	0,03	0,62	0,16	0,43	0,05		
	n_05	0,64	0,14	0,65	0,02	0,53	0,10		
	n_06	0,64	0,08	0,67	0,12	0,59	0,14		
	s_01	0,46	0,01	0,58	0,13	0,56	0,08		
	s_02	0,60	0,09	0,65	0,04	0,42	0,07		
	s_03	0,49	0,04	0,62	0,03	0,52	0,10		
	s_04	0,52	0,11	0,57	0,10	0,51	0,05		
	s_05	0,56	0,11	0,61	0,10	0,80	0,19		
Gesamt		0,58	0,09	0,63	0,09	0,49	0,09		

		O4		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
A	n_01	0,31	0,09			0,45	0,08		
	n_02	0,28	0,02			0,30	0,03		
	n_03	0,41	0,12	0,64	0,10	0,34	0,07		
	n_04	0,27	0,04	0,30	0,04	0,42	0,11		
	n_05	0,41	0,12	0,52	0,04	0,44	0,07		
	n_06	0,36	0,04	0,49	0,08	0,54	0,10		
	s_01	0,31	0,03	0,49	0,15	0,54	0,10		
	s_02	0,35	0,06	0,49	0,02	0,43	0,06		
	s_03	0,28	0,02	0,48	0,06	0,45	0,08		
	s_04	0,38	0,09	0,49	0,09	0,45	0,07		
	s_05	0,29	0,06	0,39	0,08	0,63	0,20		
Gesamt		0,33	0,06	0,48	0,07	0,45	0,09		

		O3		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
B	n_01	0,54	0,09			0,31	0,11		
	n_02	0,27	0,02			0,29	0,04		
	n_03	0,71	0,11	0,68	0,12	0,39	0,06		
	n_04	0,48	0,02	0,60	0,13	0,43	0,05		
	n_05	0,46	0,03	0,63	0,10	0,53	0,10		
	n_06	0,50	0,13	0,64	0,11	0,59	0,14		
	s_01	0,48	0,08	0,55	0,06	0,56	0,08		
	s_02	0,43	0,04	0,55	0,01	0,42	0,07		
	s_03	0,47	0,05	0,59	0,12	0,52	0,10		
	s_04	0,51	0,08	0,65	0,04	0,51	0,05		
	s_05	0,54	0,07	0,63	0,08	0,80	0,19		
Gesamt		0,49	0,07	0,61	0,08	0,49	0,09		

		O4		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
B	n_01	0,32	0,04			0,45	0,08		
	n_02	0,27	0,02			0,30	0,03		
	n_03	0,32	0,01	0,52	0,05	0,34	0,07		
	n_04	0,27	0,03	0,30	0,01	0,42	0,11		
	n_05	0,27	0,04	0,39	0,08	0,44	0,07		
	n_06	0,32	0,04	0,41	0,03	0,54	0,10		
	s_01	0,49	0,08	0,45	0,07	0,54	0,10		
	s_02	0,43	0,08	0,46	0,08	0,43	0,06		
	s_03	0,42	0,06	0,39	0,08	0,45	0,08		
	s_04	0,46	0,05	0,49	0,03	0,45	0,07		
	s_05	0,42	0,06	0,50	0,02	0,63	0,20		
Gesamt		0,36	0,05	0,44	0,05	0,45	0,09		

		O3+O4		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
A	n_01	0,41	0,17			0,38	0,10		
	n_02	0,45	0,20			0,29	0,01		
	n_03	0,61	0,23	0,67	0,10	0,36	0,03		
	n_04	0,41	0,15	0,46	0,20	0,42	0,01		
	n_05	0,52	0,17	0,59	0,08	0,49	0,06		
	n_06	0,50	0,16	0,58	0,13	0,56	0,03		
	s_01	0,38	0,08	0,53	0,14	0,55	0,01		
	s_02	0,48	0,15	0,57	0,09	0,43	0,01		
	s_03	0,39	0,12	0,55	0,09	0,49	0,05		
	s_04	0,45	0,12	0,53	0,09	0,48	0,04		
	s_05	0,42	0,16	0,50	0,15	0,71	0,12		
Gesamt		0,46	0,15	0,55	0,12	0,47	0,04		

		O3+O4		OCT				LM	
				D1		D2			
		MW	StW	MW	StW	MW	StW	MW	StW
B	n_01	0,43	0,14			0,38	0,10		
	n_02	0,27	0,02			0,29	0,01		
	n_03	0,51	0,22	0,60	0,12	0,36	0,03		
	n_04	0,37	0,11	0,45	0,18	0,42	0,01		
	n_05	0,37	0,11	0,51	0,15	0,49	0,06		
	n_06	0,41	0,13	0,52	0,14	0,56	0,03		
	s_01	0,49	0,07	0,50	0,08	0,55	0,01		
	s_02	0,43	0,05	0,51	0,07	0,43	0,01		
	s_03	0,44	0,06	0,49	0,15	0,49	0,05		
	s_04	0,49	0,07	0,57	0,09	0,48	0,04		
	s_05	0,48	0,08	0,56	0,09	0,71	0,12		
Gesamt		0,43	0,10	0,52	0,12	0,47	0,04		

Tabelle 6 Unterscheidbarkeit der verschiedenen Schichten der normalen Wand von Schweineharnleitern ex vivo in der Optischen Kohärenztomographie (OCT, n=224 Quadranten von OCT- Querschnittsbildern) und entsprechend im Endoluminalen Ultraschall (ELUS, n=144 Quadranten von ELUS-Querschnittsbildern) bewertet jeweils durch die zwei unabhängigen Beobachter (O1, O2).

OCT (n= 224)

Unterscheidbarkeit	O1		O2		Übereinstimmung		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	kappa score
verschiedene Schichten	199	89	200	89	199	89	0,427
Urothel/ Lamina propria	170	76	191	85	187	83	0,480
Lamina propria/ Muskularis	181	81	159	76	170	76	0,350
Innere- / Äußere Muskularis	194	87	7	3	37	17	0,010
verschiedene Zellschichten des Urothels	159	71	6	3	71	32	0,022

ELUS (n= 144)

Unterscheidbarkeit	O1		O2		Übereinstimmung		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	kappa score
verschiedene Schichten	71	49	73	50	96	67	0,333
Urothel/ Lamina propria	0	0	3	2	141	98	0,000
Lamina propria/ Tunica muscularis	71	49	64	44	93	65	0,291
Lamina muscularis interna/ Lamina muscularis externa	0	0	2	1	142	100	0,000
verschiedene Zellschichten des Urothels	0	0	0	0	144	100	0,000

10 Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
µs	Mikrosekunde
A	erster Untersuchungsdurchgang
Abb.	Abbildung
B	Wiederholung des Untersuchungsdurchgangs
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
D	Detektor
D1	erster Messdurchgang
D2	Wiederholung des Messdurchgangs
ELUS	endoluminaler Ultraschall
eM	Lamina muscularis externa
F	French
fs	Femtosekunde
H	Harnleiter
h	Stunde
iM	Lamina muscularis interna
K	Führungskatheter
K	Kompensator
L	Lichtquelle
L	Lumen
LM	Lichtmikroskopie
Lp	Lamina propria
MHz	Megahertz
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
Ms	Metalspitze
ms	Millisekunde
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N	Niere
NaCl-Lsg	0,9%-ige physiologisches Kochsalzlösung
NIR	near infrared
O1	Beobachter 1 (Facharzt für Urologie)
O2	Beobachter 2 (Facharzt für Radiologie)
O3	Beobachter 3 (Studentin)
O4	Beobachter 4 (Studentin)
OCT	optische Kohärenztomographie
P	Pilotlicht
p	probability
s	Lichtweg
S	Sonde
Sc	Schleuße
sec	Sekunde
SLED	Superlumineszenzdiode
Sp	undurchlässiger Spiegel
StW	Standardabweichung
T	halbdurchlässiger Spiegel
Ta	Tunica adventitia
Tm	Tunica muscularis
U	Urothel
vgl.	vergleiche
Z	Zugang

11 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Schema eines histologischen Querschnitts durch einen Harnleiter.....	9
Abb. 2	Graphische Darstellung des Prinzips der Messung der Signalverzögerungszeit.....	11
Abb. 3	Schematischer Aufbau eines Michelson-Interferometers	16
Abb. 4	Schematischer Aufbau eines OCT-Gerätes.....	19
Abb. 5	Prototyp des M1 OCT- Geräts der Firma LightLab Imaging Inc.	20
Abb. 7	Versuchsaufbau I.	24
Abb. 8	Versuchsaufbau II.	25
Abb. 9	Versuchsaufbau III	26
Abb. 10	Gegenüberstellung und Unterteilung in Bildquadranten von lichtmikroskopischem und OCT-Schnittbild.....	28
Abb. 11 a-d	Axiales histologisches und OCT-Schnittbild eines normalen Schweineharnleiters.	34
Abb. 12a, b	Schematisiertes histologisches und OCT-Schnittbild.....	35
Abb. 13 a, b	Beispiel der Schichtdickenmessung in einem OCT- und dem korrespondierenden histologischen Schnittbildausschnitt.....	37
Abb. 14	Bland-Altman Grafik im Mittel beider Beobachter (O3 + O4).....	39
Abb. 15	Bland Altman Grafik für Beobachter O3.....	39
Abb. 16	Bland-Altman Grafik für Beobachter O4.	40
Abb. 17 a, b	OCT- und ELUS-Schnittbild eines normalen Schweineharnleiters	43

12 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Qualitative Unterscheidbarkeit verschiedener Wandschichten der normalen Schweineharnleiterwand in der OCT	36
Tabelle 2	Schichtdickenmessungen von Urothel, Lamina propria und Tunica muscularis.	38
Tabelle 3	Urothelschichtdickenmessung.....	58
Tabelle 4	Schichtdickenmessungen der Lamina propria.....	59
Tabelle 5	Schichtdickenmessungen der Tunica muscularis.....	60
Tabelle 6	Unterscheidbarkeit der verschiedenen Schichten der normalen Wand von Schweineharnleitern in der OCT und im ELUS.....	61

13 Literatur

1. Armstrong WB, Ridgway JM, Vokes DE, Guo S, Perez J, Jackson RP, Gu M, Su J, Crumley RL, Shibuya TY, Mahmood U, Chen Z, Wong BJ. Optical coherence tomography of laryngeal cancer. *Laryngoscope* 2006;116(7):1107-1113.
2. Bader MJ, Sroka R, Gratzke C, Seitz M, Weidlich P, Staehler M, Becker A, Stief CG, Reich O. Laser Therapy for Upper Urinary Tract Transitional Cell Carcinoma: Indications and Management. *Eur Urol* 2008;56(1):65-71.
3. Bagley DH, Liu JB, Goldberg BB, Grasso M. Endopyelotomy: importance of crossing vessels demonstrated by endoluminal ultrasonography. *J Endourol* 1995;9(6):465-467.
4. Bagley DH, Liu JB, Grasso M, Goldberg BB. Endoluminal sonography in evaluation of the obstructed ureteropelvic junction. *J Endourol* 1994;8(4):287-292.
5. Benninghoff, Denckham D. Anatomie; Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie; Band 1; Urban und Fischer Verlag München Jena; 17. Auflage 2008;p 791-795; pp956.
6. Blessing E, Hausmann D, Sturm M, Wolpers HG, Amende I, Mugge A. Intravascular ultrasound and stent implantation: intraobserver and interobserver variability. *Am Heart J* 1999;137(2):368-371.
7. Bohringer HJ, Boller D, Leppert J, Knopp U, Lankenau E, Reusche E, Huttman G, Giese A. Time-domain and spectral-domain optical coherence tomography in the analysis of brain tumor tissue. *Lasers Surg Med* 2006;38(6):588-597.
8. Boppart SA, Herrmann JM, Pitris C, Stamper DL, Brezinski ME, Fujimoto JG. Real-time optical coherence tomography for minimally invasive imaging of prostate ablation. *Comput Aided Surg* 2001;6(2):94-103.
9. Boppart SA, Luo W, Marks DL, Singletary KW. Optical coherence tomography: feasibility for basic research and image-guided surgery of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004;84(2):85-97.
10. Bouma BE, Tearney GJ. Optical Coherence Tomography: Optical Sources. In: Bouma BE, Tearney GJ; Handbook of optical coherence tomography. first edition. New York: Marcel Dekkar Inc.; 2002:p. 67-99; pp. 741.
11. Bouma BE, Tearney GJ, Yabushita H, Shishkov M, Kauffman CR, DeJoseph Gauthier D, MacNeill BD, Houser SL, Aretz HT, Halpern EF, Jang IK. Evaluation of intracoronary stenting by intravascular optical coherence tomography. *Heart* 2003;89(3):317-320.
12. Brand S, Poneris JM, Bouma BE, Tearney GJ, Compton CC, Nishioka NS. Optical coherence tomography in the gastrointestinal tract. *Endoscopy* 2000;32(10):796-803.
13. Brezinski ME, Tearney GJ, Weissman NJ, Boppart SA, Bouma BE, Hee MR, Weyman AE, Swanson EA, Southern JF, Fujimoto JG. Assessing atherosclerotic plaque morphology: comparison of optical coherence tomography and high frequency intravascular ultrasound. *Heart* 1997;77(5):397-403.

14. Chen Y, Aguirre AD, Hsiung PL, Desai S, Herz PR, Pedrosa M, Huang Q, Figueiredo M, Huang SW, Koski A, Schmitt JM, Fujimoto JG, Mashimo H. Ultrahigh resolution optical coherence tomography of Barrett's esophagus: preliminary descriptive clinical study correlating images with histology. *Endoscopy* 2007;39(7):599-605.
15. Chen Y, Aguirre AD, Hsiung PL, Huang SW, Mashimo H, Schmitt JM, Fujimoto JG. Effects of axial resolution improvement on optical coherence tomography (OCT) imaging of gastrointestinal tissues. *Opt Express* 2008;16(4):2469-2485.
16. Cossmann M, Welzel J. Evaluation of the atrophogenic potential of different glucocorticoids using optical coherence tomography, 20-MHz ultrasound and profilometry; a double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Dermatol* 2006;155(4):700-706.
17. Costa RA, Skaf M, Melo LA, Jr., Calucci D, Cardillo JA, Castro JC, Huang D, Wojtkowski M. Retinal assessment using optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(3):325-353.
18. D'Amico AV, Weinstein M, Li X, Richie JP, Fujimoto J. Optical coherence tomography as a method for identifying benign and malignant microscopic structures in the prostate gland. *Urology* 2000;55(5):783-787.
19. Daniltchenko D, Konig F, Lankenau E, Sachs M, Kristiansen G, Huettmann G, Schnorr D. [Utilizing optical coherence tomography (OCT) for visualization of urothelial diseases of the urinary bladder]. *Radiologe* 2006;46(7):584-589.
20. Desgrandchamps F, Moulinier F, Cochand-Priollet B, Wassef M, Teillac P, Le Duc A. Microscopic study of the pig ureteral urothelium. *J Urol* 1997;157(5):1926-1927.
21. Drexler W. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2004;9(1):47-74.
22. Drexler W, Stamper D, Jesser C, Li X, Pitris C, Saunders K, Martin S, Lodge MB, Fujimoto JG, Brezinski ME. Correlation of collagen organization with polarization sensitive imaging of in vitro cartilage: implications for osteoarthritis. *J Rheumatol* 2001;28(6):1311-1318.
23. Fitzgerald PJ, Oshima A, Hayase M, Metz JA, Bailey SR, Baim DS, Cleman MW, Deutsch E, Diver DJ, Leon MB, Moses JW, Oesterle SN, Overlie PA, Pepine CJ, Safian RD, Shani J, Simonton CA, Smalling RW, Teirstein PS, Zidar JP, Yeung AC, Kuntz RE, Yock PG. Final results of the Can Routine Ultrasound Influence Stent Expansion (CRUISE) study. *Circulation* 2000;102(5):523-530.
24. Fujimoto JG. Optical Coherence Tomography: Introduction. In: Bouma BE, Tearney GJ; Handbook of optical coherence tomography. first edition. New York: Marcel Dekkar Inc.; 2002:p. 1-41;pp.741.
25. Fujimoto JG. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol* 2003;21(11):1361-1367.
26. 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.
27. Glantz SA. How to test for trends: Comparing two different measurements of the same thing: the Bland-Altman method. In: Glantz SA, ed. *Primer of Biostatistics*, New York: McGraw-Hill Health Professions Division; 1997: p.266-271

28. Glantz SA. Experiments when each subject receives more than one treatment: Experiments when subjects are observed before and after a single treatment: the paired t test. In: Glantz SA, ed. *Primer of Biostatistics*, New York: McGraw-Hill Health Professions Division; 1997: p. 283-291
29. Glantz SA. Exact Confidence Intervals for Rates and Proportions. In: Glantz SA, ed. *Primer of Biostatistics*, New York: McGraw-Hill Health Professions Division; 1997: p. 204-207
30. Goldberg BB, Bagley D, Liu JB, Merton DA, Alexander A, Kurtz AB. Endoluminal sonography of the urinary tract: preliminary observations. *AJR Am J Roentgenol* 1991;156(1):99-103.
31. Grasso M, Liu JB, Goldberg B, Bagley DH. Submucosal calculi: endoscopic and intraluminal sonographic diagnosis and treatment options. *J Urol* 1995;153(5):1384-1389.
32. Hecht E. Die Wellenbewegung. In: Hecht E, ed. *Optik*. 4te ed. München Wien: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH; 2005: p. 12-36; pp.1116.
33. Hecht E. Ein kurzer Ausflug in die Geschichte. In: Hecht E, ed. *Optik*. 4te ed. München Wien: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH; 2005: p. 1-11; pp. 1116.
34. Hecht E. Grundlagen der Kohärenztheorie. In: Hecht E, ed. *Optik*. 4te ed. München Wien: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH; 2005:p. 901-929; pp.1116.
35. Hecht E. Interferenz. In: Hecht E, ed. *Optik*. 4te ed. München: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH; 2005: p. 622-667; pp1116.
36. Hecht E. Theorie des Elektromagnetismus, Photonen und Licht. In: Hecht E, ed. *Optik*. 4te ed. München Wien: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH; 2005: p132-133; pp.1116.
37. Hee MR. Optical coherence tomography: theory. In: Bouma BE, Tearney GJ; *Handbook of optical coherence tomography*. first edition. New York: Marcel Dekkar Inc.; 2002:p. 41-67;pp. 741.
38. Hendriks AJ, Nadorp S, De Beer NA, Van Beekum JB, Gravas S. The use of endoluminal ultrasonography for preventing significant bleeding during endopyelotomy: evaluation of helical computed tomography vs endoluminal ultrasonography for detecting crossing vessels. *BJU Int* 2006;97(4):786-789.
39. Hermes B, Spoler F, Naami A, Bornemann J, Forst M, Grosse J, Jakse G, Knuchel R. 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.
40. Huang C, Liu B, Brezinski ME. Ultrasound-enhanced optical coherence tomography: improved penetration and resolution. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2008;25(4):938-946.
41. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254(5035):1178-1181.

42. Ingram MD, Sooriakumaran P, Palfrey E, Montgomery B, Massouh H. Evaluation of the upper urinary tract using transureteric ultrasound--a review of the technique and typical imaging appearances. *Clin Radiol* 2008;63(9):1026-1034.
43. Jackle S, Gladkova N, Feldchtein F, Terentieva A, Brand B, Gelikonov G, Gelikonov V, Sergeev A, Fritscher-Ravens A, Freund J, Seitz U, Soehendra S, Schroder N. In vivo endoscopic optical coherence tomography of the human gastrointestinal tract--toward optical biopsy. *Endoscopy* 2000;32(10):743-749.
44. Jafri MS, Tang R, Tang CM. Optical coherence tomography guided neurosurgical procedures in small rodents. *J Neurosci Methods* 2008.
45. Jang IK, Bouma BE, Kang DH, Park SJ, Park SW, Seung KB, Choi KB, Shishkov M, Schlendorf K, Pomerantsev E, Houser SL, Aretz HT, Tearney GJ. Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(4):604-609.
46. Jang IK, Tearney G, Bouma B. Visualization of tissue prolapse between coronary stent struts by optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *Circulation* 2001;104(22):2754.
47. Jesser CA, Boppart SA, Pitris C, Stamper DL, Nielsen GP, Brezinski ME, Fujimoto JG. High resolution imaging of transitional cell carcinoma with optical coherence tomography: feasibility for the evaluation of bladder pathology. *Br J Radiol* 1999;72(864):1170-1176.
48. Kawashima A, Glockner JF, King BF, Jr. CT urography and MR urography. *Radiol Clin North Am* 2003;41(5):945-961.
49. Kondabolu S, Khan SA, Whyard J, Diblasio C, Ayyala M, Pentyala S. The role of endoluminal ultrasonography in urology: current perspectives. *Int Braz J Urol* 2004;30(2):96-101.
50. Lam S, Standish B, Baldwin C, McWilliams A, leRiche J, Gazdar A, Vitkin AI, Yang V, Ikeda N, MacAulay C. In vivo optical coherence tomography imaging of preinvasive bronchial lesions. *Clin Cancer Res* 2008;14(7):2006-2011.
51. Lee DI, Bagley DH, Liu JB. Experience with endoluminal ultrasonography in the urinary tract. *J Endourol* 2001;15(1):67-74.
52. Li X, Martin S, Pitris C, Ghanta R, Stamper DL, Harman M, Fujimoto JG, Brezinski ME. High-resolution optical coherence tomographic imaging of osteoarthritic cartilage during open knee surgery. *Arthritis Res Ther* 2005;7(2):R318-323.
53. Lin L, Bagley DH, Liu JB. Role of endoluminal sonography in evaluation of obstruction of the ureteropelvic junction. *AJR Am J Roentgenol* 2008;191(4):1250-1254.
54. 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.
55. Liu JB, Bagley DH, Conlin MJ, Merton DA, Alexander AA, Goldberg BB. Endoluminal sonographic evaluation of ureteral and renal pelvic neoplasms. *J Ultrasound Med* 1997;16(8):515-521; quiz 523-514.

56. Low AF, Tearney GJ, Bouma BE, Jang IK. Technology Insight: optical coherence tomography--current status and future development. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3(3):154-162; quiz 172.
57. Luo W, Nguyen FT, Zysk AM, Ralston TS, Brockenbrough J, Marks DL, Oldenburg AL, Boppart SA. Optical biopsy of lymph node morphology using optical coherence tomography. *Technol Cancer Res Treat* 2005;4(5):539-548.
58. Mahmood U, Ridgway J, Jackson R, Guo S, Su J, Armstrong W, Shibuya T, Crumley R, Chen Z, Wong B. In vivo optical coherence tomography of the nasal mucosa. *Am J Rhinol* 2006;20(2):155-159.
59. Manyak MJ, Gladkova ND, Makari JH, Schwartz AM, Zagaynova EV, Zolfaghari L, Zara JM, Iksanov R, Feldchtein FI. Evaluation of superficial bladder transitional-cell carcinoma by optical coherence tomography. *J Endourol* 2005;19(5):570-574.
60. Meissner OA, Schmedt CG, Hunger K, Hetterich H, Sroka R, Rieber J, Babaryka G, Steckmeier BM, Reiser M, Siebert U, Mueller-Lisse U. Endovascular optical coherence tomography ex vivo: venous wall anatomy and tissue alterations after endovenous therapy. *Eur Radiol* 2007;17(9):2384-2393.
61. Mueller-Lisse U, Mueller-Lisse U, Scheidler J, Klein G, Reiser M. Reproducibility of image interpretation in MRI of the prostate: application of the sextant framework by two different radiologists. *Eur Radiol* 2005;15(9):1826-1833.
62. Mueller-Lisse UL, Meissner OA, Babaryka G, Bauer M, Eibel R, Stief CG, Reiser MF, Mueller-Lisse UG. Catheter-based intraluminal optical coherence tomography (OCT) of the ureter: ex-vivo correlation with histology in porcine specimens. *Eur Radiol* 2006;16(10):2259-2264.
63. Pan Y, Lavelle JP, Bastacky SI, Meyers S, Pirtskhalaishvili G, Zeidel ML, Farkas DL. Detection of tumorigenesis in rat bladders with optical coherence tomography. *Med Phys* 2001;28(12):2432-2440.
64. Pan YT, Xie TQ, Du CW, Bastacky S, Meyers S, Zeidel ML. Enhancing early bladder cancer detection with fluorescence-guided endoscopic optical coherence tomography. *Opt Lett* 2003;28(24):2485-2487.
65. Patschan O, Horstmann M, Thomas C, Schlemmer HP, Stenzl A. [Diagnostic procedures in upper urinary tract urothelial carcinoma]. *Urologe A* 2008;47(11):1487-1496.
66. 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.
67. Poneros JM, Brand S, Bouma BE, Tearney GJ, Compton CC, Nishioka NS. Diagnosis of specialized intestinal metaplasia by optical coherence tomography. *Gastroenterology* 2001;120(1):7-12.
68. Potempa DM, Rassweiler J. Ultraschall in der Urologie: Technische Grundlagen. In: Rassweiler J, Merkle W, eds. *Ultraschall in der Urologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 1997:p. 2-11.
69. Ridgway JM, Armstrong WB, Guo S, Mahmood U, Su J, Jackson RP, Shibuya T, Crumley RL, Gu M, Chen Z, Wong BJ. In vivo optical coherence tomography of the human oral cavity and oropharynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;132(10):1074-1081.

70. Rieber J, Meissner O, Babaryka G, Reim S, Oswald M, Koenig A, Schiele TM, Shapiro M, Theisen K, Reiser MF, Klauss V, Hoffmann U. Diagnostic accuracy of optical coherence tomography and intravascular ultrasound for the detection and characterization of atherosclerotic plaque composition in ex-vivo coronary specimens: a comparison with histology. *Coron Artery Dis* 2006;17(5):425-430.
71. Seitz U, Freund J, Jaeckle S, Feldchtein F, Bohnacker S, Thonke F, Gladkova N, Brand B, Schroder S, Soehendra N. First in vivo optical coherence tomography in the human bile duct. *Endoscopy* 2001;33(12):1018-1021.
72. Sepehr A, Armstrong WB, Guo S, Su J, Perez J, Chen Z, Wong BJ. Optical coherence tomography of the larynx in the awake patient. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;138(4):425-429.
73. Takahashi N, Kawashima A, Glockner JF, Hartman RP, Kim B, King BF. MR urography for suspected upper tract urothelial carcinoma. *Eur Radiol* 2009;19(4):912-923.
74. Tearney GJ, Brezinski ME, Bouma BE, Boppart SA, Pitris C, Southern JF, Fujimoto JG. In vivo endoscopic optical biopsy with optical coherence tomography. *Science* 1997;276(5321):2037-2039.
75. Tearney GJ, Brezinski ME, Southern JF, Bouma BE, Boppart SA, Fujimoto JG. Optical biopsy in human gastrointestinal tissue using optical coherence tomography. *Am J Gastroenterol* 1997;92(10):1800-1804.
76. Tearney GJ, Brezinski ME, Southern JF, Bouma BE, Boppart SA, Fujimoto JG. Optical biopsy in human urologic tissue using optical coherence tomography. *J Urol* 1997;157(5):1915-1919.
77. Tearney GJ, Jang IK, Kang DH, Aretz HT, Houser SL, Brady TJ, Schlendorf K, Shishkov M, Bouma BE. Porcine coronary imaging in vivo by optical coherence tomography. *Acta Cardiol* 2000;55(4):233-237.
78. Tearney GJ, Yabushita H, Houser SL, Aretz HT, Jang IK, Schlendorf KH, Kauffman CR, Shishkov M, Halpern EF, Bouma BE. Quantification of macrophage content in atherosclerotic plaques by optical coherence tomography. *Circulation* 2003;107(1):113-119.
79. Tsuboi M, Hayashi A, Ikeda N, Honda H, Kato Y, Ichinose S, Kato H. Optical coherence tomography in the diagnosis of bronchial lesions. *Lung Cancer* 2005;49(3):387-394.
80. Treiber U, Karl A, Autenrieth M, Retz M, Lehmann J, Stief CG, Gschwend JE, Zimmermann F, Zaak D. Urothelkarzinome. In: U. Treiber ed. *Manual Urogenitale Tumoren; Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. München: Tumorzentrum München und W. Zuckschwerdt Verlag München; 2008.; p.121-125. pp 355.
81. Walther T, Walther H. Im Licht der Geschichte. In: C.H. Beck, ed. *Was ist Licht? - Von der klassischen Optik zur Quantenoptik*. 2te Auflage München: Verlag C.H. Beck oHG; 2004;p 8-31; pp.135.
82. Walther T, Walther H. Klassisches Licht - Zusammenfassung der Eigenschaften und Phänomene. In: C.H. Beck, ed. *Was ist Licht?- Von der klassischen Optik zur Quantenoptik*. 2te Auflage ed. München: Verlag C.H. Beck oHG; 2004;p 31-53; pp.135.

83. Wang ZG, Durand DB, Schoenberg M, Pan YT. Fluorescence guided optical coherence tomography for the diagnosis of early bladder cancer in a rat model. *J Urol* 2005;174(6):2376-2381.
84. Welsch U. Harnorgane. In: U Welsch, Sobotta, eds. *Lehrbuch Histologie, Zytologie, Histologie, Mikroskopische Anatomie 2te Auflage* ed. München Jena, Urban und Fischer Verlag 2006:p 468-474;pp 675
85. Welzel J. Optical coherence tomography in dermatology: a review. *Skin Res Technol* 2001;7(1):1-9.
86. Welzel J, Lankenau E, Birngruber R, Engelhardt R. Optical coherence tomography of the human skin. *J Am Acad Dermatol* 1997;37(6):958-963.
87. Wong BJ, Jackson RP, Guo S, Ridgway JM, Mahmood U, Su J, Shibuya TY, Crumley RL, Gu M, Armstrong WB, Chen Z. In vivo optical coherence tomography of the human larynx: normative and benign pathology in 82 patients. *Laryngoscope* 2005;115(11):1904-1911.
88. Xie T, Guo S, Zhang J, Chen Z, Peavy GM. Determination of characteristics of degenerative joint disease using optical coherence tomography and polarization sensitive optical coherence tomography. *Lasers Surg Med* 2006;38(9):852-865.
89. Yabushita H, Bouma BE, Houser SL, Aretz HT, Jang IK, Schlendorf KH, Kauffman CR, Shishkov M, Kang DH, Halpern EF, Tearney GJ. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 2002;106(13):1640-1645.
90. Yuan Z, Wang Z, Pan R, Liu J, Cohen H, Pan Y. High-resolution imaging diagnosis and staging of bladder cancer: comparison between optical coherence tomography and high-frequency ultrasound. *J Biomed Opt* 2008;13(5):054007.
91. Zagaynova EV, Streltsova OS, Gladkova ND, Snopova LB, Gelikonov GV, Feldchtein FI, Morozov AN. In vivo optical coherence tomography feasibility for bladder disease. *J Urol* 2002;167(3):1492-1496.
92. Zysk AM, Boppart SA. Computational methods for analysis of human breast tumor tissue in optical coherence tomography images. *J Biomed Opt* 2006;11(5):054015.
93. Zysk AM, Nguyen FT, Oldenburg AL, Marks DL, Boppart SA. Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside. *J Biomed Opt* 2007;12(5):051403.

14 Publikationen und Kongressbeiträge

Teile dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München vorab publiziert in:

- Mueller-Lisse UL, Meissner OA, Babaryka G, Bauer M, Eibel R, Stief CG, Reiser MF, Mueller-Lisse UG. Catheter-based intraluminal optical coherence tomography (OCT) of the ureter: ex-vivo correlation with histology in porcine specimens. *Eur Radiol* 2006;16(10):2259-2264.
- Mueller-Lisse UL, Meissner OA, Bauer M, Weber C, Babaryka G, Stief CG, Reiser MF, Mueller-Lisse UG. Catheter-based intraluminal optical coherence tomography versus endoluminal ultrasonography of porcine ureter ex vivo. *Urology* 2009;73(6):1388-1391.

sowie mit Kogressbeiträgen (Abstracts) vorgestellt auf dem:

- 86. Deutscher Röntgenkongress der DRG 2005 (VO_2107): Mueller-Lisse UL, Meissner OA, Babaryka G, Bauer M, Reiser M, Mueller-Lisse UG.: Intraluminale optische Kohärenztomographie zur mikrostrukturellen Darstellung von Ureter-Wandschichten in vitro
- European Congress of Radiology of the European Society of Radiology 2006 (B-207): Mueller-Lisse UL, Meissner OA, Babaryka G, Bauer M, Reiser M, Mueller-Lisse UG.: Intraluminal optical coherence tomography: Demonstration of tissue layers in ureteral specimens ex vivo by new means of microstructural imaging
- 13th European Symposium on Urogenital Radiology of the European Society of Urogenital Radiology 2006; Mueller-Lisse U.L.: Comparison of intraluminal optical coherence tomography and intravascular ultrasound in the delineation of different wall layers of porcine ureters ex vivo
- 59. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. 2007 (P KLIN 4.7) Müller-Lisse UL, Bauer M, Weber C, Barbaryka G, Reiser M, Stief C, Müller-Lisse UG.: Differenzierung verschiedener Wandschichten an Schweineharnleitern ex vivo mittels intraluminaler optischer Kohärenztomographie und endoluminalem Ultraschall

15 Danksagung

Zum Schluss dieser Dissertationsschrift möchte ich mich bei einigen Personen, die mich auf meinem bisherigen medizinischen Werdegang begleitet haben, bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser möchte ich für die Gelegenheit danken, an seinem Lehrstuhl promovieren zu dürfen.

Sehr herzlich möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. U.G. Müller-Lisse für die Überlassung dieses interessanten Themas, die Anleitung im wissenschaftlichen Arbeiten und die Hilfe bei der Datenanalyse sowie für seine Geduld und sein außergewöhnliches Engagement dabei bedanken.

Ebenso möchte ich mich sehr herzlich bei Frau Dr. med. U.L. Müller-Lisse für die großzügige Unterstützung und die überaus engagierte, stetige Betreuung während des gesamten Entstehungsprozesses dieser Arbeit bedanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt Frau M. Jäger für die gute Zusammenarbeit während der Durchführung der Untersuchungen und deren anschließender gemeinsamer Auswertung.

Mein weiterer Dank gilt Herrn PD Dr. med. O. Meissner für seine wertvolle Hilfe bei der Einarbeitung in die Methode „OCT“. Herrn Dr. med. C. Weber möchte ich danken für seine Hilfe bei der Bedienung des endoluminalen Ultraschalls.

Herrn Dr. med. G. Babaryka und Frau Dr. F. Roggel (Pathologisches Institut Innenstadt, LMU München) möchte ich für das Anfertigen der histologischen Schnitte und ihre Anleitung bei deren Auswertung danken.

Allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe „OCT“ möchte ich darüber hinaus für die überaus angenehme Arbeitsatmosphäre danken.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Pölloth für die großzügige Bereitstellung der Nieren-Harnleiterpräparate.

Mein unendlicher Dank gilt meinen lieben Eltern, die mich in meinem Leben immer geduldig unterstützt haben.

16 Lebenslauf

Persönliche Daten

- Name: Margit Andrea Bauer
- Wohnort: Amalienstr. 87, 80799 München
- Geburtsdatum: 19.09.1982
- Geburtsort: Rosenheim
- Staatsangehörigkeit: deutsch
- Eltern: Margarete I. Bauer, Richterin am Landgericht
Robert A. Bauer, Regierungsdirektor am Landratsamt

Schulische Ausbildung

- 09/88 - 07/92 Grundschule Seeon-Seebruck
- 09/92 - 07/01 Landschulheim Schloß Ising am Chiemsee
- 07/01 Allgemeine Hochschulreife (Note 1,5)

Studium

- 10/01 - 06/08 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 09/03 Ärztliche Vorprüfung
- 05/08 Ärztliche Prüfung (Note 1,5)
- 10/08 – 03/09 Promotionsstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- Seit 04/09 Assistenzärztin in der Chirurgie RoMed Klinik Prien am Chiemsee (Chefarzt Prof. Dr. med. J. Stadler)