

Krebsfrüherkennung im Mundhöhlenbereich

Fortsetzung von Seite 1

Aus diesem Grund war die Krebsfrüherkennung im Mundhöhlenbereich bisher unbefriedigend und konnte nicht wesentlich zur Senkung der Mortalität beitragen. Eine deutlich höhere Sicherheit bei der Beurteilung der malignen Potenz einer Mundschleimhautläsion bringt die histologische Untersuchung der Exzisionsbiopsie, die allerdings einen invasiven Eingriff darstellt. Vor allem kann man hier – außer in gewissen Grenzfällen – beurteilen, ob bereits ein invasives Wachstum vorliegt und damit ein Frühkarzinom. Bei noch nichtinvasiven Prozessen wird eine Abweichung von der normalen Epitheldifferenzierung als Dysplasie histologisch definiert. Der Grad der Dysplasie einer prämaligen Läsion muss derzeit als wichtigster Indikator der malignen Potenz angesehen werden, hochgradige Epitheldysplasien und Carcinomata in situ gelten als Präkanzerosen (Vorläuferläsionen) im engeren Sinne. Eine schematische Übersicht über die schrittweise Kanzerogenese des Mundschleimhautepithels gibt Abbildung 1. Allerdings bleibt die Dysplasiestadienuntersuchung trotz zahlreicher Objektivierungsversuche bis zu einem gewissen Grad subjektiv und ihr Vorhersagewert wird angezweifelt (Holmstrup et al. 2007). So besteht eine Fehlerbreite von etwa 3%, in denen Patienten auch mit geringgradigen oder mittelgradigen Dysplasien bei langfristiger Beobachtung ein Karzinom entwickeln (Maerker und Burkhardt, 1978). Ein weiteres Problem bei der Abklärung unklarer Mundschleimhautläsionen war bisher die Tatsache, dass sowohl Zahnärzte als auch Patienten bei der überwiegenden Anzahl der absolut harmlos erscheinenden Läsion vor einem invasiven Eingriff, d.h. einer Exzisionsbiopsie zurückschrecken. Da die Häufigkeit von im weitesten Sinne verdächtigen und damit abklärungspflichtigen Veränderungen der Mundschleimhaut in der erwachsenen Bevölkerung auf bis zu 25% geschätzt werden muss (Axéll, 1976) – wenn man Normvarianten mitberücksichtigt, sogar in über 50% (Morger et al. 2007, Studie an Schweizer Rekruten) wäre ein solches Vorgehen auch unverhältnismäßig und unrealistisch. Dies hat zu einer weitverbreiteten „Warten- und Beobachten-Haltung“ der behandelnden Zahnärzte und Oralchirurgen geführt.

Die Krebsfrüherkennung im Mundhöhlenbereich bisher unbefriedigend und konnte nicht wesentlich zur Senkung der Mortalität beitragen. Eine deutlich höhere Sicherheit bei der Beurteilung der malignen Potenz einer Mundschleimhautläsion bringt die histologische Untersuchung der Exzisionsbiopsie, die allerdings einen invasiven Eingriff darstellt. Vor allem kann man hier – außer in gewissen Grenzfällen – beurteilen, ob bereits ein invasives Wachstum vorliegt und damit ein Frühkarzinom. Bei noch nichtinvasiven Prozessen wird eine Abweichung von der normalen Epitheldifferenzierung als Dysplasie histologisch definiert. Der Grad der Dysplasie einer prämaligen Läsion muss derzeit als wichtigster Indikator der malignen Potenz angesehen werden, hochgradige Epitheldysplasien und Carcinomata in situ gelten als Präkanzerosen (Vorläuferläsionen) im engeren Sinne. Eine schematische Übersicht über die schrittweise Kanzerogenese des Mundschleimhautepithels gibt Abbildung 1. Allerdings bleibt die Dysplasiestadienuntersuchung trotz zahlreicher Objektivierungsversuche bis zu einem gewissen Grad subjektiv und ihr Vorhersagewert wird angezweifelt (Holmstrup et al. 2007). So besteht eine Fehlerbreite von etwa 3%, in denen Patienten auch mit geringgradigen oder mittelgradigen Dysplasien bei langfristiger Beobachtung ein Karzinom entwickeln (Maerker und Burkhardt, 1978). Ein weiteres Problem bei der Abklärung unklarer Mundschleimhautläsionen war bisher die Tatsache, dass sowohl Zahnärzte als auch Patienten bei der überwiegenden Anzahl der absolut harmlos erscheinenden Läsion vor einem invasiven Eingriff, d.h. einer Exzisionsbiopsie zurückschrecken. Da die Häufigkeit von im weitesten Sinne verdächtigen und damit abklärungspflichtigen Veränderungen der Mundschleimhaut in der erwachsenen Bevölkerung auf bis zu 25% geschätzt werden muss (Axéll, 1976) – wenn man Normvarianten mitberücksichtigt, sogar in über 50% (Morger et al. 2007, Studie an Schweizer Rekruten) wäre ein solches Vorgehen auch unverhältnismäßig und unrealistisch. Dies hat zu einer weitverbreiteten „Warten- und Beobachten-Haltung“ der behandelnden Zahnärzte und Oralchirurgen geführt.



Abb. 2: Speziell für die Bürstenbiopsie entwickelte Bürste des OralCDx-Verfahrens. Je nach Lokalisation können das flache Ende oder die Zirkumferenz zur Entnahme eingesetzt werden.



Abb. 3: Der Pathologe beurteilt die vom Computer mit dem Oral CDx Verfahren selektierten Zellen der Zellgalerie und kontrolliert den Befund am Mikroskop.

stellung von Zelloberflächenantigenen, intrazellulären Komponenten und Produkten sowie Basalmembran- und Stromaveränderungen
 } In-situ-Hybridisierungen mit der Möglichkeit der Darstellung viraler Infektionen, wie etwa Papillomavirusinfektionen sowie Expression von tumorassoziierten Genen
 } Elektronenmikroskopie mit Darstellung von Mikroinvasion und Differenzierungsverlust.

Insbesondere die Darstellung von Onkogenen und Suppressoronkogenen mithilfe von Immunhistologie oder In-situ-Hybridisierung verspricht für die Zukunft wichtige Einblicke in den Prozess der oralen Kanzerogenese (Scully und Burkhardt 1993, Burkhardt 1996, Scully et al. 2003). Zahlreiche Veränderungen, wie etwa die Zunahme des proliferierenden Zellpools, der Verlust von hochmolekularen Zytokeratinen oder Alterationen von anderen immunhistologisch darstellbaren Differenzierungsprodukten, insbesondere im Bereich der Basalmembranzzone, und Zelladhäsionen können zwar zusätz-

bei der Diagnostik oraler Präkanzerosen kann von modifizierten Zytologieuntersuchungen, computerassistierten Quantifikationen und Zytometrie erwartet werden.“ Erste Untersuchungen bezüglich der Bedeutung der DNA-Zytometrie wurden bereits in den Siebziger- und Achtzigerjahren des vorigen Jahrhunderts vorgelegt (Ehlers 1972, Pfitzer und Pape 1975, Mittermayer et al. 1981). Ein Hauptproblem dieser Methode ist es, dass sogar ein großer Teil der manifesten Karzinome, mutmaßlich somit auch der präkanzerösen Veränderungen diploid oder „nahezu“ diploid (peridiploid) sind und somit durch diese Methode nicht erfasst werden. Die Problematik der DNA-Zytometrie wurde an anderer Stelle ausführlich besprochen (Burkhardt, 2006 b u. c). So kommen Lippman und Hong (2001) zu dem Schluss, dass ein einzelner molekularer Marker oder Markergruppe den Verlauf einer einzelnen oralen Leukoplakie nicht vorherbestimmen kann. Vielversprechender ist hier die sog. Multiparameterbildanalyse (Multiparameter image analysis), bei der verschiedene zytologische

Die Bürstenbiopsie

Die Bürstenbiopsie – eine Form der Abrasionszytologie – ist definiert als Entnahme von Zell- und Gewebematerial von Schleimhäuten mithilfe einer geeigneten Bürste (Abb. 2), bei der alle Epithelschichten bis zur Basalmembran erfasst werden. Insbesondere ist es wichtig, dass Basalzellen als Stammzellen und Ausgangspunkt einer malignen Transformation in der Probe enthalten sind (vergl. Abb. 1).

Die Bürstenbiopsie unterscheidet sich dadurch wesentlich von der konventionellen Abstrichzytologie (mit Wattebausch o.ä.) oder der Bürstenzytologie, die beide in der Regel nur oberflächliche Zellelemente erfassen. Diese beiden letztgenannten Techniken werden auch als Exfoliativzytologien (von Folium [lateinisch] das Blatt, also „Entlaubungszytologie“) zusammengefasst. Die einfache Exfoliativzytologie, die für die Früherkennung des Zervixkarzinoms große Erfolge brachte, hat sich trotz zahlreicher Versuche für die Mundhöhlen Schleimhaut nicht bewährt, da die stärker verhornte Schleimhaut ohne Umwand-

Erfolg haben hier – wie zuvor ausgeführt – Kombinationen von semiquantitativer DNA-Messung und morphometrischen Parametern (Multiparameter-Bildanalyse) aufzuweisen, wie sie u.a. in dem computerassistierten OralCDx-Verfahren für die Routinediagnostik zur Verfügung steht. Kein Verfahren ersetzt bisher die abschließende Beurteilung durch den erfahrenen Histo- und Zytopathologen (Tosi und Cottier 1989). Das Bürstenbiopsieentnahmeverfahren in Verbindung mit einer solchen speziellen, auf neutralem Netzwerk basierenden Multiparameterzellanalyse wird als OralCDx für die Mundschleimhaut angeboten und wurde im deutschsprachigen Raum von Drore Eisen (2004 a–e), Burkhardt (2006 a) und Driemel und Mitarbeiter (2007 a u. b) ausführlich vorgestellt und besprochen. Die Com-

cke bei der Abklärung von verdächtigen Mundschleimhautläsionen insofern besteht, als diese sehr häufig sind, die klinische Inspektion aber unzuverlässig ist und es unverhältnismäßig wäre, alle harmlos aussehenden Mundschleimhautläsionen durch Inzisions- oder Exzisionsbiopsien abzuklären.

Befundkategorien

Die mithilfe des OralCDx-Verfahrens erhobenen Befundkategorien sind folgende:

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

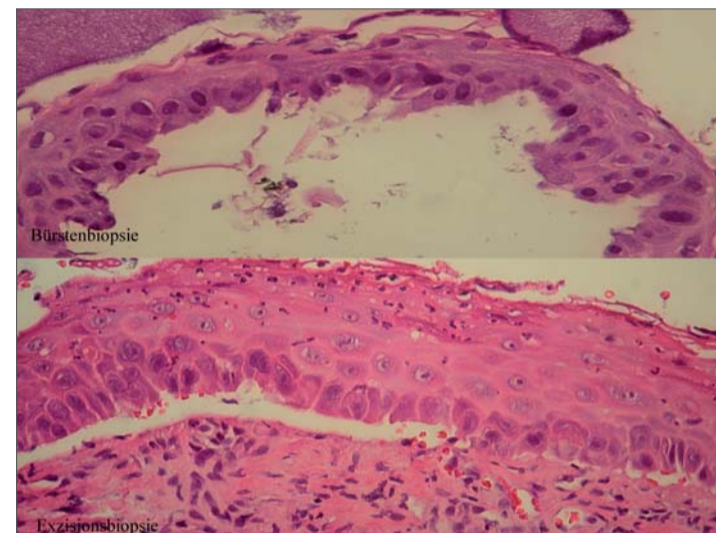


Abb. 4: Gegenüberstellung der mithilfe der Bürstenbiopsie gewonnenen vollständigen Epithellamelle (oben), Kategorie „positiv“, mit der anschließenden Exzisionsbiopsie, unten (Carcinoma in situ). In letzterem Material ist lediglich das subepitheliale Stroma zusätzlich erfasst.

puter-Assistenz erhöht die Sicherheit und Effizienz der Diagnostik und reduziert die „intra- und interobserver“ Subjektivität. Der Computer präsentiert aufgrund einer solchen Zell- und Gewebeanalyse eine Zellgalerie von 192 am stärksten von der Norm abweichenden Zellen, die vom Pathologen unter Kontrolle am Mikroskop befundet werden können (Abb. 3). Zusätzlich wird das Restgewebe an der Bürste nach Anfertigung des Ausstrichs in Paraffin eingebettet und histologisch untersucht, was immunhistologische und molekularbiologische Zusatzuntersuchungen erlaubt. Die Bürstenbiopsie in Verbindung mit der computerassistierten OralCDx-Auswertung ist somit ein Verfahren, welches eine besondere, nicht-invasive Gewebeentnahme mit zytologischer und histologischer Untersuchung darstellt. Nichtinvasiv – allenfalls minimalinvasiv – deshalb, weil die Basalmembran in der Regel erhalten bleibt und so eine Regeneration „ad integrum“ erfolgt. Die Beurteilung durch einen erfahrenen Pathologen in Ergänzung zu der Computerauswertung überbrückt somit das bisher bestehende, oben ausführlich geschilderte, Dilemma des Kliniklers, dass nämlich eine Lü-

Ein typisches Beispiel der Befundkategorien „positiv“ gibt Abbildung 4, an der man gleichzeitig sieht, dass nicht nur Einzelzellen wie im typischen Abstrich, sondern tatsächlich Gewebebänder, d.h. kleine Schleimhautbiopsien vorliegen.

Eine negative Diagnose bedeutet, dass keine epithelialen Atypien gefunden wurden. Genau wie bei einer histologischen Abklärung mit negativem Ergebnis sollten persistierende Läsionen regelmäßig beobachtet und in gewissen Abständen erneut mit OralCDx getestet werden. Eine positive Diagnose bedeutet, dass eindeutige Hinweise auf Zellatypien im Sinne einer Epitheldysplasie oder von malignen Zellen vorliegen und die Mundschleimhautläsion somit eine Präkanzerose oder ein Karzinom darstellt. In diesen Fällen sollte die Diagnose in jedem Falle durch eine Exzisionsbiopsie und histologische Untersuchung abgesichert werden, um die Läsion weiter zu klassifizieren und zu gradieren. Dies ist dann die Grundlage der Therapieplanung. Die dritte diagnostische Kategorie lautet: „atypisch“. Dies bedeutet, dass von der Norm abweichende, d.h. „abnormale“ epitheliale Veränderungen vorhanden

Andere Neoplasien	Infektionen – Entzündung	Blasenbildende Dermatosen
– Speicheldrüsentumoren – Metastasen – Leukämien, Lymphome – Melanozytäre Tumoren (Nävus, malignes Melanom) – periphere odontogene Tumoren	– Entzündung – Granulationsgewebe – Ulkus – Massive Bakterienbesiedlung – Pilzbesiedlung (u.a. Candida) – Virale Infektionen (HSV, CMV, Virus-einschlusskörper)	– Pemphigus – Pemphigoid – Lichen planus

Tab. 1: Wichtige Zusatzbefunde beim Oral CDx-Verfahren.

liche Informationen über die Läsion liefern, sind jedoch insofern unspezifisch, als sie sich auch bei entzündlichen Prozessen und Zell-Lokomotion verändern (Burkhardt 1980, 1985 b, Jordan et al. 2001, 2002, Scully et al. 2003, Massano et al. 2006). Neue Entwicklungen machten es möglich, auch an zytologischen – d.h. ohne invasives Vorgehen gewonnenen Präparaten – molekular-pathologische und zytometrische Untersuchungen durchzuführen. Hierzu gehören: DNA-Zytometrie, Bildanalyse, Mikrosatelliten, nukleäre Organisationsregionen, Keratinanalysen, Onkogen- und Tumorsuppressorgenanalysen (Garewal et al. 1993, Casartelli et al. 2000, Friedrich et al. 2000, Scheifele et al. 2002, Remmerbach et al. 2003, Mehrotra et al. 2006). In Verbindung mit der verbesserten Entnahmetechnik (Bürstenentnahme) hat dies zu einer Renaissance der Zytodiagnostik im oralen Bereich geführt. Entsprechend diesen Prämissen formulierte Burkhardt bereits 1985: „Fortschritt und Weiterentwicklung

und histologische Kriterien, ergänzt durch molekularbiologische Darstellung von malignitätsassoziierten Veränderungen synoptisch ausgewertet werden. Die Frage ist somit nicht mehr, ob eine computerassistierte Diagnostik brauchbar oder wichtig ist, sondern vielmehr welche Kombinationen von Kriterien und Markern am zuverlässigsten für ein gegebenes Problem sind und wie sie optimal und in Bezug auf Aufwand und Zeit vertretbar eingesetzt werden können (Tosi und Cottier 1989). Eine derartige Kombination einer Multiparameterbildanalyse mit semiquantitativer DNA-Auswertung und spezieller Bürstenentnahme von der Mundschleimhaut stellt die Bürstenbiopsie im Rahmen des sog. „OralCDx-Verfahrens“ dar. Durch die Bürstenentnahme von Zell- und Gewebematerial steht eine nichtinvasive und beliebig wiederholbare Technik zur Verfügung, die den Patienten kaum beeinträchtigt und die Lücke zwischen Mundhöhleninspektion und invasiver Exzisionsbiopsie schließt.

lungszone falsch-negativ Raten von 30–60% erbrachte (Dabelsteen et al. 1971, Folsom et al. 1972, Reddy et al. 1975, Zallen 1978). Sie gilt deshalb im Mundhöhlenbereich nicht als akzeptable Methode zur Krebsfrüherkennung.

Die computerassistierte Auswertung (OralCDx)

Da die „manuelle“ Auswertung von Bürstenbiopsien mit 50.000 bis 100.000 Zellen und Zellgruppen durch den Zytologen oder Pathologen nicht nur durch menschliche, subjektive Fehlerquellen belastet ist (Ermüdung, Übersehen nur einzelner atypischer Zellen), sondern auch sehr zeit- und personalaufwendig und damit kostenintensiv ist, ist dies für die Bearbeitung im Rahmen des erforderlichen Massenscreenings verdächtigter oraler Schleimhautläsionen kaum vertretbar. Deshalb lag es nahe, hier die modernen Möglichkeiten einer Computerauswertung heranzuziehen. Besonderen

Lösungsansätze

In den letzten Jahren hat es deshalb nicht an intensiven Bemühungen gefehlt, weniger invasive, objektive und zuverlässigere morphologische Malignitätsmarker zu entwickeln. Hierbei handelt es sich um:

- } Zytologie (Exfoliativ, Bürste, Feinnadelpunktat) ergänzt durch verschiedene molekularbiologische Untersuchungen und Computerassistenz
- } Quantifizierung morphologischer Parameter
- } Histochemische Färbungen und Enzymhistochemie
- } Immunhistochemie mit Dar-

Lokalisation	Häufigkeit in %
Planum buccale	25,35
Gingiva/Alveoläre Schleimhaut	18,95
Harter Gaumen	11,25
Retromolares Dreieck	10,95
Zunge lateral	10,60
Mundboden	6,65
Labial/vestibulär	4,60
Weicher Gaumen	3,80
Zunge ventral	3,20
Zunge dorsal	1,80
Kieferkamm	1,25
Oropharynx/Tonsille	0,53
Keine Angaben	1,05

Tab. 2: Verteilung der Lokalisationen bei 7.069 Bürstenbiopsien aus dem Oral- und Oropharynxbereich.