

Diplomarbeit

**Tumorgröße als prognostischer Faktor des
Zervixkarzinoms**

Eine Verifikation mit Volumetrie und Verlaufsbeobachtung

eingereicht von

Thorsten Maier

Mat.Nr.: 0014223

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

unter der Anleitung von

Ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Josef Haas

und

O.Univ.-Prof. Dr.med.univ. Raimund Winter

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, Juni 2008

Vorwort

Das Zervixkarzinom ist mit einer Inzidenz von 16,2 erkrankten Frauen pro 100 000 (1) nach wie vor eine äußerst bedeutende Krankheitsentität in der gynäkologischen Onkologie. Durch konsequentes Screening der weiblichen Bevölkerung in Staaten der westlichen Welt konnte die Zahl großer Tumoren fortgeschrittenen Stadiums gesenkt werden. Die Menge an entdeckten Frühläsionen, sowohl intraepithelialer Neoplasien, als auch frühinvasiver Karzinome stieg jedoch in dieser Zeit erheblich. In Österreich beispielsweise nimmt das Frühstadium des Zervixkarzinoms, das Carcinoma in situ mit 67,8% der Krebsinzidenz nach Stadium (Jahresdurchschnitt 2002/2004, Statistik Austria) den weitaus größten Anteil der Tumorstadien ein. Dieser Drift im Bereich der Tumorstadien und damit veränderter Eigenschaften dieser Stadien machten es notwendig, die in der Vergangenheit aufgestellte Lehrmeinung einer radikalen operativen Tumorchirurgie zum Ziel der Heilung der Patientin zu verlassen, da sich daraus oft erhebliche Nebenwirkungen für die operierten Patientinnen ergaben. Um die Übertherapie und damit negativen Konsequenzen, wie Blasen- oder Sexualfunktionsstörungen der Patienten zu verhindern, aber auch um bei jungen Karzinompatienten mit möglichem Kinderwunsch ein fertilitätserhaltendes Verfahren zu ermöglichen, wurde bereits in der Vergangenheit nach Faktoren gesucht, welche eine Vorhersage des Tumorwachstums- bzw. der Metastasierungswahrscheinlichkeit und damit des Rezidivrisikos mit Signifikanz vorhersagen konnten. Es sollte sich dabei, wie bereits in einigen Studien gezeigt, die Tumorgröße als ein wesentlicher Faktor für Krankheitsprognose bzw. Rezidivwahrscheinlichkeit erweisen, und zwar als einziger, der auch mit anderen Faktoren wie Inzidenz von positiven Lymphknoten und Lymphgefäßinvasion, Invasion umgebenden Bindegewebes und parametrianer Infiltration korreliert (2,3).

Ziel dieser Arbeit ist es, die Bedeutung des Tumorumfanges anhand des Patientenkollektives der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Graz durch die Vermessung histologischer Präparate von Zervixkarzinomen aus den Jahren 1994 bis 2007, Verlaufsbeobachtung und statistischer Auswertung der Daten, zu untermauern.

Danksagungen

Für die Bereitstellung des Arbeitsthemas, die persönliche Betreuung und die Begutachtung gilt mein besonderer Dank Herrn ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Josef Haas, der mir bei der Erstellung dieser Diplomarbeit jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Besonders in seinem Metier, der medizinischen Statistik konnte ich dankenswerterweise seine hilfreiche Unterstützung in Anspruch nehmen.

Für medizinische Belange, welche für diese Arbeit von Nöten waren, gilt mein Dank Herrn o.Univ.-Prof. Dr.med.univ. Raimund Winter, welcher mir mit der Bereitstellung von wichtigem gynäkologischen Faktenwissen zur Verständlichkeit der Thematik, und deren Vertiefung große Hilfe leistete.

Gewidmet ist diese Diplomarbeit meinen Eltern, Gisela und Emil Maier, die mich in meiner Unternehmung, Medizin zu studieren, förderten und unterstützten, wo es nur ging. Mit ihrer elterlichen Liebe und ihrem starken Vertrauen begleiteten sie mich durch die Höhen und Tiefen meines Studiums. Dafür möchte ich ihnen herzlichst danken.

Weiters bedanke ich mich bei meiner Freundin Anika Schaffer für ihre Geduld, die sie bei meiner Erstellung der Arbeit aufbringen musste, für den starken Rückhalt und die große Herzenswärme, die ich in dieser Zeit erfahren durfte.

Abstrakt

Hintergrund

Diese Arbeit macht sich zur Aufgabe, anhand der Tumorentität des Zervixkarzinoms den wesentlichen objektiven Prognosefaktor Tumorgröße mit dem Überleben der Patientinnen in Zusammenhang zu setzen. Aufgrund der großen Bedeutung dieses Tumors beschränkt sich diese Arbeit nicht ausschließlich auf die Untersuchung eines prognostischen Faktors, sondern versucht, mit Rückschluß auf die Pathogenese des Malignoms, Prävention und mögliche diagnostische und therapeutische Wege einen globalen Überblick über das Krankheitsbild des Zervixkarzinoms zu geben. Ein weiteres Ziel war es, die Messungen der Tumorgröße, die bisher nur mit einem relativ großen technischen Aufwand durchgeführt werden konnten, zu vereinfachen.

Methoden

Für diese Untersuchung wurden Großflächenschnitte von Operationspräparaten nach Wertheim-Meiggs-OP einem einheitlichen optischen Messverfahren zugeführt. Dabei wurde computerunterstützt mittels spezieller Software (ImageJ) nach der Digitalisierung der histologischen Schnitte manuell Zervixfläche, Tumorfläche, Abstandsmessungen (Tumor- zu Zervixgrenze) und Feret-Durchmesser in zwei Dimensionen ermittelt. Im Anschluß wurde aus den gemessenen Flächenwerten das Volumen der Tumoren berechnet. Nach Auswertung der Verlaufsprotokolle der behandelten Patientinnen wurde mit Hilfe ausgewählter statistischer Verfahren (Kaplan-Meier-Estimator, Log-Rank und Chi-Quadrat-Tests) ein prognostizierter unmittelbarer Zusammenhang zwischen ermittelten Messgrößen und Überleben der Patientinnen untersucht.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 73 Großflächenschnitte vermessen. Für die Zervixfläche ergaben sich Werte zwischen 377,9 – 2429,4 mm² (Median: 1011,7 mm²), für die Tumorfläche wurden Werte zwischen 21,6 – 2010,1 mm² (Median: 385,7 mm²) ermittelt. Aus den vorliegenden Messwerten wurden Tumolvolumina zwischen 93,0 mm³ und 77483,0 mm³ (Median: 8504,0 mm³) berechnet. Zervix- und Tumorgröße wurden weiters in Relation zueinander gesetzt (Tumor-Zervix-Quotient: 0,02 - 1,05). Im Sinne einer verbesserten Auswertung wurde das untersuchte Kollektiv um 74 Fälle aus älteren Datenbeständen erweitert. Ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0,05$) konnte in Zusammenschau mit dem klinischem Stadium für die Parameter Zervixfläche, Tumorfläche, Tumolvolumen und Tumor-Zervix-Quotient gefunden werden.

Conclusio

Tumorgröße ist nach wie vor ein bedeutender prognostischer Faktor für das Überleben der Patientinnen. Um eine definitive statistische Aussage für das Überleben treffen zu können, sind weitere Untersuchungen mit einer Fallzahl von repräsentativer Größe erforderlich.

Abstract

Background

In medical sciences, especially tumor sciences, objective criteria are essential to determine the behavior of illnesses or to make a comparison of different treatment options for special tumor entities. By several authors tumor size at diagnosis is reported as a very important prognostic factor for the survival of patients. For this study special focus is given on cancer of the cervix uteri, one of the most important gynaecological malignancies in the world.

Methods

To examine the prognostic value of tumor size for cervical cancer giant sections of the cervix, parametria and vaginal cuff from specimen taken at radical hysterectomy after tumor diagnosis were measured. Computerized measurement of cervix- and tumor area, distance of tumor margin to cervix margin and Feret's diameter in two dimensions was performed from a representative section by using open source software for picture processing (ImageJ). With the help of volume formulas describing mathematical models an estimation of tumor volume was made. Determined figures were compared with findings of patients' follow up from the hospital archive storage of gynaecological malignancies. Different statistical methods (Kaplan-Meier estimator, Log Rank and Chi-Square tests) were chosen to show a possible relationship between tumor size and patients' survival.

Results

A total of 73 sections of cervical cancers were measured. 74 old cases were admitted to the results to improve statistical elaboration. Measured area of the cervix uteri ranged from 377.9 to 2429.4 mm² (median: 1011.7 mm²) whereas tumor area was determined between 21.6 and 2010.1 mm² (median: 385.7 mm²). Tumor volume was calculated (93.0 mm³ to 77483.0 mm³ (mean: 8504.0 mm³) and tumor-cervix quotient (relation between cervix and tumor size) showed a range from 0.02 to 1.05. Statistical investigation showed a significance of $p < 0.05$ for clinical stage increasing with cervix- and tumor area, tumor volume and tumor-cervix-quotient.

Conclusion

In case of cervical cancer tumor size is still a very important prognostic factor for the survival of patients. In this contribution an attempt was made to show if there is a practicable possibility to measure morphological properties of cervical cancers. Further investigations have to be done to validate the role of tumor size, shape and distance of tumor margin to cervix margin on the survival of patients.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	ii
Danksagungen	iii
Abstrakt	iv
Hintergrund.....	iv
Methoden.....	iv
Ergebnisse.....	iv
Conclusio.....	iv
Abstract.....	v
Background.....	v
Methods	v
Results	v
Conclusion.....	v
Inhaltsverzeichnis	vi
Glossar und Abkürzungen	viii
Abbildungsverzeichnis	ix
Tabellenverzeichnis	x
1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologische Aspekte zum Zervixkarzinom.....	1
1.1.1 Weltweite Entwicklung	1
1.1.2 Europaweite Fakten zum Zervixkarzinom	2
1.1.3 Das Zervixkarzinom in Österreich	2
1.2 Histologie der gesunden Zervix.....	4
1.3 Pathogenese des Zervixkarzinoms	5
1.3.1 Virale Onkogenese	5
1.3.1.1 HPV-Infektion: Clearance versus Persistenz.....	6
1.3.2 Begleitfaktoren in der Tumorentstehung.....	7
1.4 Diagnostik des Zervixkarzinoms	7
1.4.1 Screeningtests	7
1.4.1.1 Zytologische Tests.....	8
1.4.1.1.1 PAP-Abstrich.....	8
1.4.1.1.2 ThinPrep®-Test.....	10
1.4.1.2 HPV-DNA Test	12
1.4.1.2.1 Durchführung des HC-2 HPV DNA-Tests.....	13
1.4.2 Kolposkopie.....	14
1.4.3 Histologische Untersuchung.....	15
1.5 Von der CIN zum invasiven Karzinom.....	16
1.6 Stadieneinteilung nach FIGO und andere Klassifikationen	17
1.7 Therapie des Zervixkarzinoms	19
1.7.1 Mikroinvasives Karzinom	19
1.7.2 Invasives Karzinom	20
1.7.3 Fortgeschrittene Stadien des invasiven Zervixkarzinoms	21
1.7.4 Operative Verfahren beim Zervixkarzinom	22
1.7.4.1 Radikale Trachelektomie (Operation nach Dargent).....	22
1.7.4.1.1 Technik der radikalen Trachelektomie.....	22
1.7.4.2 Hysterektomie (Modifizierte Klassifikation von Piver)	23
1.8 Prognose des Zervixkarzinoms.....	24
1.9 Zielsetzung dieser Arbeit.....	27
2 Material und Methoden	29

2.1	Studienaufbau	29
2.2	Methoden	29
2.2.1	OP-Präparate als Vermessungsgrundlage.....	29
2.2.2	Histologische Aufarbeitung der OP-Präparate	29
2.2.3	Auswertung der histologischen Präparate	32
2.2.4	Zervix und Karzinom – Von der Fläche zum Volumen	36
2.2.5	Behandlungsprotokolle von Tumorpatienten	37
2.2.6	Datenerfassung und Statistik	38
2.2.7	Textverarbeitung und Layout	39
3	Ergebnisse.....	40
3.1	Resultate des computergestützten Messverfahrens	40
3.2	Informationsgewinn durch Behandlungsprotokolle und Nachbeobachtung	46
3.3	Zusammenführung der erhobenen Daten und statistische Auswertung	47
4	Diskussion	57
4.1	Überlegungen zur Arbeit	57
4.2	Andere Arbeitsgruppen und deren Ergebnisse	58
4.3	Limitationen der Arbeit	59
4.4	Perspektiven für die Zukunft	60
5	Literaturverzeichnis	62
	Lebenslauf	69

Glossar und Abkürzungen

WHO	World Health Organisation
HPV	Humane Papilloma Viren
DNA	Desoxyribonucleinsäure
OR	Odds ratio
PAP	Papanicolaou
CIN	Cervicale Intraepitheliale Neoplasie
bzw.	Beziehungsweise
UICC	Union Internationale contre le Cancer
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
Aa.	Arteriae
dpi	dots per inch
NIH	National Institutes of Health
mm	Millimeter
Tu-Vol.	Tumorvolumen

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Inzidenz und Mortalität, betreffend Zervixkarzinompatientinnen in Österreich im zeitlichen Verlauf.....	3
Abbildung 2: Zervix-Broom zur Entnahme von Zellmaterial der Ekto- und Endozervix für die Dünnschichtzytologie (Firma Cytec)	10
Abbildung 3: Eingelesenes Rohbild mit Stiftmarkierung der Zervix und des Karzinoms (Mitte) durch den Pathologen.....	33
Abbildung 4: Benutzeroberfläche des Bildverarbeitungsprogrammes ImageJ (für Macintosh-Computer).....	33
Abbildung 5: ImageJ bei der Vermessung histologischer Schnitte (auf Mac OS X 10.5 Leopard)	34
Abbildung 6: Illustration der am Karzinom getätigten Messungen	35
Abbildung 7: Formel der numerischen Exzentrizität ϵ als Maß für die Abweichung eines Kegelschnittes von der Kreisform. (a =große Halbachse, b =kleine Halbachse der Ellipse).....	36
Abbildung 8: Umrechnung auf metrisches Maß	36
Abbildung 9: Volumenformel des Ellipsoids; h entspricht Durchmesser, A_{\max} entspricht größter gemessener Fläche	37
Abbildung 10: Altersverteilung des untersuchten Patientenkollektivs.....	40
Abbildung 11: Verteilung der Zervixschnittflächengrößen am untersuchten Patientenkollektiv	42
Abbildung 12: Verteilung der Tumorschnittflächengrößen am untersuchten Patientenkollektiv	43
Abbildung 13: Verteilung der Tumorfreen Randzone am untersuchten Patientenkollektiv	44
Abbildung 14: Verteilung der geometrischen Form analysierter Zervixkarzinome.....	44
Abbildung 15: Horizontaler Feret-Durchmesser der untersuchten Tumoren.....	45
Abbildung 16: Vertikaler Feret-Durchmesser der untersuchten Tumoren.....	46
Abbildung 17: Stadiumabhängige Verteilung des analysierten Patientenkollektivs der Untersuchungsgruppe „Alt“	48
Abbildung 18: Stadiumabhängige Verteilung des analysierten Patientenkollektivs der Untersuchungsgruppe „Neu“	48
Abbildung 19: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach FIGO-Stadium	54
Abbildung 20: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach Tumolvolumen	55
Abbildung 21: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach Tumor-Zervix-Quotient	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation nach Papanicolaou, (Quelle: Österreichische Gesellschaft für Chirurgische Onkologie)	9
Tabelle 2: Mögliche Arten der Gewebeprobengewinnung.....	15
Tabelle 3: Zervikale intraepitheliale Neoplasien im Verlauf	17
Tabelle 4: Staginguntersuchungen bei vorliegendem Zervixkarzinom.....	18
Tabelle 5: Tumorklassifikation nach FIGO und UICC (TNM).....	19
Tabelle 6: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 1	20
Tabelle 7: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 2	20
Tabelle 8: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 3	21
Tabelle 9: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 4	22
Tabelle 10: Traditionelle Prognosefaktoren des Zervixkarzinoms (2006).....	25
Tabelle 11: Signifikante morphologische Prognosefaktoren in absteigender statistischer Signifikanz (Pickel et al, 1988)	26
Tabelle 12: Arbeitsschritte der Entparaffinierung des Präparates	31
Tabelle 13: Arbeitsschritte zur Färbung des Präparates	31
Tabelle 14: Datierung und Anzahl analysierter histologischer Schnitte	41
Tabelle 15: Tumolvolumina in Abhängigkeit von untersuchter Gruppe und Stadium	49
Tabelle 16: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Tumolvolumen.....	50
Tabelle 17: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Zervixfläche	50
Tabelle 18: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Tumor-Zervix-Quotient	51
Tabelle 19: Übersicht über das 5-Jahres-Überleben, aufgelistet nach Patientensubgruppen	53

1 Einleitung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem Krankheitsbild des Zervixkarzinoms, bei dem abhängig vom Entstehungsort auf Zellebene hauptsächlich eine Unterscheidung zwischen dem Adenokarzinom und dem wesentlich häufigeren Plattenepithelkarzinom der Zervix erfolgen kann. Daneben gibt es aber noch eine Reihe anderer histologischer Differenzierungen, welche das Zervixkarzinom annehmen kann. Zumindest die beiden Entitäten des Plattenepithel- und des Adenokarzinoms vergleichend lässt sich sagen, dass die im Rahmen der Epidemiologie und Diagnostik getroffene histologische Differenzierung des Tumors für die Therapie, diese richtet sich vor allem nach dem Invasionsgrad des Tumors und Prognose, nur eine untergeordnete Rolle spielt (4,5). Der größte Anteil an diagnostizierten Karzinomen zeigt eine plattenepitheliale Differenzierung, weltweit und auch in der vorliegenden Patientengruppe.

1.1 Epidemiologische Aspekte zum Zervixkarzinom

1.1.1 Weltweite Entwicklung

Auch wenn in Staaten der sogenannten westlichen Welt ein Rückgang in der Erkrankungshäufigkeit des Zervixkarzinoms seit etwa drei Jahrzehnten bemerkbar ist, bleibt das Karzinom des Gebärmutterhalses weltweit betrachtet eine äußerst bedeutende Krankheitsentität. Diese Tumorart ist aufgrund ihrer langsamen Entwicklung einer Früherkennung durch Vorsorgeuntersuchungen besonders gut zugänglich und spiegelt so die dramatische Situation mangelhafter Präventivmaßnahmen von Entwicklungsländern wieder, die mit Abstand mit den höchsten Inzidenzraten an Zervixtumoren zu kämpfen haben. So gab es beispielsweise im Jahre 2005 laut Angaben der WHO über 500 000 neue Fälle von Zervixkarzinomen, von welchen über 90% in Entwicklungsländern zu verzeichnen waren. Eine Schätzung der WHO über die Gesamtzahl der an Gebärmutterhalskrebs erkrankten Frauen geht von über 1 Million aus, die meisten davon wegen der schlechten Gesundheitsversorgung und fehlender Screeningprogramme nicht einmal diagnostiziert bzw. aufgrund fehlender Ressourcen nicht oder nicht adäquat behandelt. Ein wesentlicher Grund für die Zahl von etwa 260 000 Todesfällen im Jahre 2005, von denen 95% der Frauen in Entwicklungsländern starben.

Höchste Inzidenzraten von über 45 betroffenen Frauen von 100 000 finden sich im südlich der Sahara gelegenen Afrika und in Teilen Südamerikas, gefolgt von Regionen wie Süd-

und Südostasien mit einer Inzidenz von 15 bis 30 pro 100 000 Frauen (6). Damit reiht sich das Zervixkarzinom, international betrachtet, hinter dem Mammakarzinom auf Rang zwei der häufigsten Malignome der Frau ein.

Aus histologischer Sicht ist als häufigster Subtyp das Plattenepithelkarzinom zu finden (75,9%) (7), gefolgt vom Adenokarzinom, das etwa ein Viertel (20-25%) alle Tumore ausmacht (8). Der Rest wird durch Tumoren gebildet, die eine Mischdifferenzierung oder überhaupt keine Differenzierung mehr aufweisen.

1.1.2 Europaweite Fakten zum Zervixkarzinom

Wie in den Entwicklungsländern betrifft das Karzinom des Gebärmutterhalses vor allem jüngere Frauen im Alter zwischen 35 – 50 Lebensjahren und sorgt neben der persönlichen Belastung der Betroffenen und ihrer Familien auch für einen erheblichen volkswirtschaftlichen Schaden. In den 25 Mitgliedsstaaten der Europäischen Union betrug im Jahr 2004 die Zahl der Neuerkrankungen an Zervixkarzinomen bei Frauen unter 45 Lebensjahren etwa 31 000. Im selben Jahr zeigte sich dieser gynäkologische Tumor für 14 000 Todesfälle verantwortlich (9). Dabei ergaben sich große zahlenmäßige Unterschiede beim Vergleich der fünfzehn alten mit den zehn neuen Mitgliedsstaaten, beziehungsweise zwischen Ländern von West- und Osteuropa. Die altersstandardisierte Neuerkrankungsrate betrug im Westen ungefähr 9,5 pro 100 000, während sich die neuen Mitgliedsländer mit etwa 16,7 betroffenen Patientinnen pro 100 000 konfrontiert sahen. Auch die hohe altersstandardisierte Sterblichkeitsrate osteuropäischer Länder von 10,7 (im Vergleich 4,9 in den alten EU-Staaten) zeigt, dass die Entität des Zervixkarzinoms im Osten unseres Kontinents ein weitaus größeres Gesundheitsproblem darstellt und es zahlreicher Verbesserungen im Bereich der Prävention beziehungsweise der Früherkennung durch Screeningprogramme und in der Behandlung diagnostizierter Tumore bedarf.

1.1.3 Das Zervixkarzinom in Österreich

In Österreich sank die Inzidenz dieses Tumors von 19,2 pro 100 000 Frauen pro Jahr im Jahre 1983 auf 7,9 pro 100 000 (2004, altersstandardisierte Rate, Statistik Austria). Ebenso rückläufig verhält sich die Mortalität, welche aufgrund der guten Aufklärung, weit verbreiteter Screeningprogramme und dabei früh diagnostizierten Tumorstadien wesentlich niedriger liegt als die Neuerkrankungsrate. Die verbesserte Prognose durch eine Früherkennung der Krankheit sorgt österreichweit für eine altersstandardisierte

Mortalitätsrate von 2,2 auf 100 000 (2004), verglichen mit 4,4 auf 100 000 im Jahr 1983 (Statistik Austria). Abhängig von den Tumorstadien sind es also vor allem das Carcinoma in situ und lokalisierte Tumoren, die mit 67,8% bzw. 17,5% im Jahresdurchschnitt (2002/2004) den größten Anteil an der Inzidenz des Gebärmutterhalskrebses haben, und für eine gute Prognose der Betroffenen stehen.

Statistisch gesehen lebt eine Frau mit Zervixkarzinom häufiger in der Stadt und entstammt häufiger unteren sozioökonomischen Schichten. Bezogen auf das Alter der Betroffenen ist das Zervixkarzinom im Vergleich zu zahlreichen anderen Tumorentitäten, welche sich erst im hohen Alter entwickeln, hauptsächlich eine Erkrankung von Patientinnen mittleren Alters (45 – 60 (69). LJ). Adenokarzinome entwickeln sich im Schnitt 5 Jahre später (10). Besonders hohe Inzidenzen werden bei Prostituierten und Drogenabhängigen beobachtet (BDH, 2001).

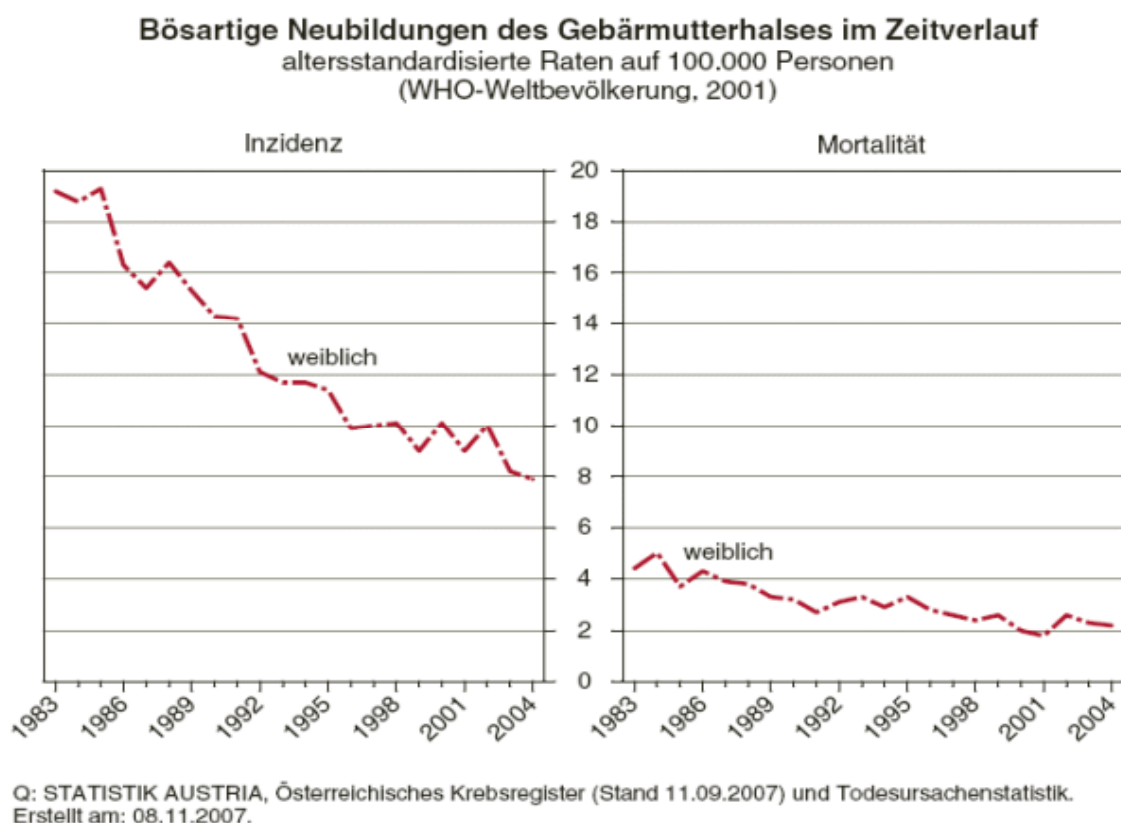


Abbildung 1: Inzidenz und Mortalität, betreffend Zervixkarzinompatientinnen in Österreich im zeitlichen Verlauf

1.2 Histologie der gesunden Zervix

Die Cervix uteri bildet mit einer durchschnittlichen Länge von etwa drei Zentimetern (Ein Drittel der Uterusgesamtlänge) und einem Durchmesser von etwa 2,5 Zentimetern den kaudalen Abschluss des Uterus. Mit ungefähr einem Drittel ihrer Länge ragt die Cervix uteri zapfenförmig in die Scheide. Der oberhalb der Scheide liegende Anteil der Cervix uteri wird als Portio vaginalis, der in der Scheide liegende Teil wird als Portio supra vaginalis bezeichnet. Die Verbindung der Scheide zur Gebärmutterhöhle, der Cavitas uteri, stellt der Zervikalkanal (Canalis cervicis uteri) her.

Seine äußere Öffnung auf der Portio vaginalis cervicis, das Ostium uteri externum wird als äußerer Muttermund, seine Öffnung nach innen in die Cavitas wird als Ostium uteri internum oder auch innerer Muttermund bezeichnet. Das Ostium externum uteri ist die Grenze zwischen der sichtbaren Ektozervix und der im Zervikalkanal liegenden Endozervix.

Die Oberfläche der Zervix wird von zwei verschiedenen Arten von Epithelien bekleidet. Zum einen ist es das aus der Cavitas uteri fortgeführte einschichtig, hochprismatische Zylinderepithel, das zumindest noch vor der Pubertät ausschließlich den Cervicalkanal auskleidet, und am äußeren Muttermund mit scharfer Grenze in das mehrschichtig unverhornte Plattenepithel der Ektozervix übergeht, welches auch die Scheide auskleidet. Im Laufe des Lebens einer Frau ist die Überkleidung des Gebärmutterhalses, vor allem der Ektozervix einem physiologischen Wandel unterworfen.

In der Menarche beginnt aufgrund der beginnenden Ausschüttung von Östrogen durch die Ovarien ein Größenwachstum der Zervix und das Zylinderepithel, welches nur den Zervikalkanal bedeckte wird auch auf der äußeren Ektozervix sichtbar, es kommt zur sogenannten Ektopie. Durch das saure Milieu der Scheide kommt es durch die Anpassungsversuche des Epithels nach rezidivierenden Entzündungen und reaktiver Basalzellhyperplasie aufgrund gesteigerter Regeneration zu einer Metaplasie des hochprismatischen Zylinderepithels in ein metaplastisches Plattenepithel. Dieses Epithel unterscheidet sich vom herkömmlichen unverhornten Plattenepithel durch eine Basalzellschicht von großen polygonalen Zellen, welche auf eine Herkunft vom Zylinderepithel schließen lassen. Dieses neu gebildete metaplastische Plattenepithel verschiebt die Grenze zwischen Zylinder- und Plattenepithel wieder an die äußere Öffnung des Zervikalkanals. Die Region zwischen alter und neuer Grenze, also jener Bereich mit

metaplastischem Epithel wird als Transformationszone bezeichnet. Sie soll als wesentliche Aufgabe die Zervix vor chemischen, mechanischen oder infektiösen Einflüssen schützen, stellt aber durch die Metaplasie bei Anwesenheit von Co-Faktoren, wie beispielsweise einer chronischen HPV-Infektion, ein Risiko zur Dysplasie, respektive zur malignen Entartung dar.

Mit der Verminderung, beziehungsweise dem Verlust der Östrogenstimulation zum Zeitpunkt der Peri- und Postmenopause, kommt es zu einem Schrumpfen der Cervix uteri, was eine Retraktion des Zylinderepithels und der Transformationszone in den Zervikalkanal zur Folge hat. Es ist schließlich bei Einstellung der Portio nur mehr die ursprüngliche Grenze zwischen Platten- und metaplastischen Epithel und Teile der Transformationszone sichtbar. Folglich ist bei Frauen in Abhängigkeit ihres Hormonstatus vor der Menopause eher mit malignen Veränderungen im Bereich der Zervixoberfläche zu rechnen, während man diese postmenopausal im Zervikalkanal selbst findet.

1.3 Pathogenese des Zervixkarzinoms

Ausgangspunkt für das Zervixkarzinom ist also vor allem die Transformationszone mit ihrem metaplastischen Plattenepithel bei gesteigerter Proliferationsrate. Es bedarf einiger zusätzlicher Risikofaktoren um über die Entstehung einer Dysplasie ein Karzinom der Zervix zu entwickeln.

1.3.1 Virale Onkogenese

Als bedeutendster Faktor einer plattenepithelialen Neoplasie der Cervix uteri gilt die chronische Infektion mit humanen Papillomviren – HPV. Es handelt sich dabei um zirkuläre Doppelstrang-DNA Viren, welche zur Gruppe der Papovaviridae gehören und bereits 1907 durch Giuseppe Ciuffo erstbeschrieben wurden (11). Dabei bedeutend zeigen sich die HPV-Typen 16, 18, 31, 33, 45 so genannte „High-risk“-HPV-Typen welche nachweislich Infektionen des Plattenepithels der Portioschleimhaut, im Speziellen der Transformationszone verursachen. Von den bisher mehr als 100 isolierten Genotypen von HP-Viren gibt es mehr als 40 Genotypen, die nachweislich Epithelien des Anogenitaltraktes und anderer Regionen befallen können. Die Bezeichnung „High-risk“ wurde für Virustypen ausgewählt, die ein hohes Risiko besitzen, Neoplasien des Plattenepithels zu verursachen, also über eine hohe Kanzerogenität verfügen. Dies trifft vor

allem auf die Typen HPV-16 und HPV-18 zu, die weltweit in mehr als 70% der Fälle Zervixkarzinome verursachen (12).

Über molekulare Wirkmechanismen an den Epithelzellen, die bis dato nur zum Teil bekannt sind wie die Integration des Virusgenoms in das Genom der Zelle und die Aktivierung von viralen Onkoproteinen, entstehen so Wachstumsvorteile für die Epithelzellen, welche jetzt selbst Schäden ihrer DNA unbeschadet überleben. Bei bereits erforschten Onkoproteinen handelt es sich um jene mit der Bezeichnung E6 und E7. Das Protein E6 fungiert als Suppressor von Apoptose und verhindert das Absterben von Zellen mit genetischen Schäden und zwar über die Bindung und Inaktivierung des Tumorsuppressorproteins p53, während E7 die Replikation und das Zellwachstum über den Wirkungsverlust des Rb (Retinoblastom) Proteins fördern. Ein wesentlicher Mechanismus bei der Infektion mit humanen Papillomviren erklärt dabei auch deren unterschiedliches Verhalten im Bezug auf Kanzerogenität. Während „Low-risk“ HPV Stämme wie beispielsweise HPV-6 und HPV-11, welche als Verursacher von benignen Veränderungen wie Genitalwarzen (Condyloma acuminata) bekannt sind, bei Infektion von Wirtszellen eher deren DNA in Form von zirkulären Episomen in der Zelle ablagern, ziehen es „High-risk“ HPV Stämme vor, ihr Genom in das Wirtsgenom zu integrieren (13). Da dies häufig ab einer Stelle im Genom des Virus erfolgt, die für die Entstehung des regulatorischen Proteins E2 codiert, ergibt sich ein Verlust der negativen Rückkoppelung durch E2, was in einer gesteigerten Expression von E6 und E7 seinen Ausdruck findet. Dies sorgt für einen Wachstumsvorteil von mit High-risk Stämmen infizierten Zellen, selbst gegenüber HPV-Stämmen mit episomalen Genen (14).

1.3.1.1 HPV-Infektion: Clearance versus Persistenz

Nicht jede Infektion der Zervix mit humanen Papillomaviren führt zwangsläufig zu einer Entartung von Epithelzellen und zum Zervixkarzinom. Die meisten Infektionen können durch das körpereigene Immunsystem sowohl in Form einer humoralen Abwehr durch spezifische Antikörper, als auch einer zellulären Abwehr durch T-Zellen in eine so genannte Clearance überführt werden (15,16). Das bedeutet per definitionem, dass die DNA des ursprünglich nachgewiesenen HPV-Types durch gegebene Testverfahren nicht mehr nachweisbar ist. Abhängig vom HPV-Typ (high-risk/low-risk) ergibt sich eine unterschiedliche durchschnittliche Clearance-Dauer, die auch von Studie zu Studie in ihrer Länge variiert. Sie beträgt bei Low-risk Typen 5 – 6 Monate, während bei High-risk HPV-Viren eine durchschnittliche Zeitspanne von 8 - 14(24) Monaten notwendig ist um das Epithel von Virus-DNA zu befreien (16,17). Durch das Versagen der immunologischen

Antwort des Körpers auf die Virusinfektion persistieren Viruspartikel, replizieren sich, und üben mit signifikanter Wahrscheinlichkeit Einfluss auf die Zellkerne des zervikalen Epithels aus, die in Folge eine Tendenz zur malignen Entartung aufweisen.

Über die Vorstufe einer intraepithelialen Neoplasie, welche später ausführlicher erläutert wird, füllen Tumorzellen schließlich die ganze Breite des Epithels aus und durchbrechen die Basalmembran, um sich im darunter gelegenen Bindegewebe (der Zervix, Vagina und Vulva) auszubreiten.

1.3.2 Begleitfaktoren in der Tumorentstehung

Weitere diskutierte Faktoren der Tumorentstehung unterstützten vor allem die Pathogenese der HPV-Infektion, indem beispielsweise angenommen wird, dass der starke Stimulus durch weibliche Sexualhormone während der Pubertät, Schwangerschaft und bei der Einnahme oraler Kontrazeptiva die Transformationszone durch Wachstum der Ektozervix vergrößert. Dies könnte die Infektion mit Papillomaviren zusätzlich begünstigen, was den signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen und früher sexueller Aktivität, Mehrfachschwangerschaften, und in geringerem Ausmaß Langzeitverwendung oraler Kontrazeptiva erklären könnte (4,18).

Ein ebenso bedeutender Begleitfaktor bei der Entstehung von Zervixmalignomen ist das Rauchen. Festgestellte epidemiologische Zusammenhänge zwischen Zigarettenrauch und Zervixkarzinom (OR=2) wurden bereits in der Vergangenheit durch chemische und molekulargenetische Analysen untermauert, die zum einen Nitrosamine als im Tabakrauch vorkommende Substanz auch im Zervixschleim nachweisen und zum anderen Tabakrauch-assoziierte Veränderungen der DNA von Zervixepithelzellen zeigen konnten (13).

1.4 Diagnostik des Zervixkarzinoms

Zur Untersuchung der Cervix uteri stehen in der Gynäkologie mehrere Methoden zur Verfügung. Grundsätzlich kann man zwischen Verfahren unterscheiden, die für Screeningprogramme Verwendung finden und Verfahren, die bei positivem Screeningtest dieses Ergebnis veri- oder falsifizieren können.

1.4.1 Screeningtests

Mit dem Begriff Screening wird eine Methode auf Public Health Ebene bezeichnet, die es ermöglicht, in einer Population diejenigen Individuen zu identifizieren, welche ein besonders hohes Risiko aufweisen, eine bestimmte Erkrankung zu erleiden auch wenn sie

zum Untersuchungszeitpunkt keine gesundheitlichen Beschwerden aufweisen. Der dafür benötigte Test soll nicht die Diagnose einer bereits ausgebrochenen Krankheit bringen, sondern betroffene Frauen mit Anzeichen für erhöhtes Erkrankungsrisiko einer weiterführenden spezifischeren Diagnostik und, wenn nötig, Behandlung zuführen. Ein Screeningverfahren lässt sich aber nicht für jede Erkrankung etablieren, sondern ist an notwendige Kriterien der gesuchten (gescreenten) Krankheit gebunden um überhaupt seinen Zweck zu erfüllen. Es muss sich um eine Erkrankung handeln, die eine volkswirtschaftliche Bedeutung hat, ein symptomloses präklinisches Stadium aufweist und durch einen Screeningtest detektiert werden kann, der nicht invasiv ist und über eine ausreichende Sensitivität und auch Spezifität verfügt. Ganz im Sinne der Sekundärprävention sollte die Entdeckung der Erkrankung im präklinischen Stadium und die frühzeitige Behandlung eine Verbesserung der Prognose für die Betroffenen bringen.

Um ein Screeningprogramm durchführen zu können, müssen auch die Voraussetzungen gegeben sein, im Falle positiver Untersuchungsergebnisse betroffenen Personen weiterführende Diagnostik und bei positiver Bestätigung Behandlungsmöglichkeiten anbieten zu können.

An brauchbare Screeningtests werden ebenso mehrere Anforderungen gestellt: Genauigkeit, Sicherheit, Einfache Handhabung, Reproduzierbarkeit, Geringe Kosten, Akzeptanz der getesteten Gruppe. Für das Zervixkarzinom bzw. für dessen Vorstufen gibt es derzeit drei Verfahren, die genannte Anforderungen erfüllen und sich als Screeningmethode eignen:

- Zytologische Tests (PAP-Abstrich, ThinPrep®)
- HPV-DNA Test
- Visuelle Beurteilung mittels Essigsäureprobe und Lugol-Jod-Lösung

1.4.1.1 Zytologische Tests

1.4.1.1.1 PAP-Abstrich

Der PAP-Abstrich, benannt nach dem griechischen Anatomen und Pathologen George Nicholas Papanicolaou (1883-1962) ist nach seiner Einführung vor mehr als fünfzig Jahren auch heute noch einer der bedeutendsten Screeningtest, der in seiner Geschichte zu einer drastischen Verringerung der Inzidenz des Zervixkarzinoms der westlichen Welt geführt

hat. Beispielsweise wurde das zytologische Screening in den Sechziger Jahren in den USA eingeführt und verringerte die Inzidenzrate des invasiven Zervixkarzinoms um 75% (19).

Da aufgrund der hohen Inzidenz des Tumors in Entwicklungsländern der Bedarf an Screeningprogrammen dort besonders hoch ist, und sehr häufig nur knappe Ressourcen zur Verfügung stehen, sind die geringen Kosten des Testverfahrens ein wesentliches Argument für dessen Verwendung. Bei genauer Betrachtung des Verfahrens zeigen sich jedoch auch beträchtliche Schwächen, welche die weitere Verwendung der PAP-Zytologie als Screeningmethode, bereits durch zahlreiche Studien belegt, in Frage stellte. So bemängelt man vor allem die geringe Sensitivität der PAP-Zytologie, beträgt die Wahrscheinlichkeit eines einzigen PAP-Testes eine CIN 2,3 oder ein Zervixkarzinom zu entdecken gerade einmal um die 50% (19% bis 77%) (19,20). Als primäre Ursachen dieser geringen Zahl werden Fehler in der Entnahme, Herstellung und Beurteilung der PAP-Präparate angenommen (21,22).

Eine korrekte Entnahme erfolgt nach der Säuberung der Zervix mittels Holzspatel oder Bürstchen, indem getrennte Abstriche von der Ekto- und Endozervix (Transformationszone) entnommen werden. Die Zellen werden dann auf einen Objektträger übertragen und sogleich mit 97% Alkohol fixiert. Im zytologischen Labor werden die Abstriche dann nach Papanicolaou gefärbt. Anschließend kann die Beurteilung des Abstriches und zwar nach Empfehlung der Österreichischen Gesellschaften für Pathologie und Angewandte Zytologie in folgende Stufen erfolgen:

Tabelle 1: Klassifikation nach Papanicolaou, (Quelle: Österreichische Gesellschaft für Chirurgische Onkologie)

PAP I	Normales Zellbild
PAP II	Entzündliche, regenerative, metaplastische oder degenerative Veränderungen, normale Endometriumzellen
PAP III	Schwere entzündliche oder degenerative Veränderungen mit nicht sicher beurteilbarer Dignität
PAP IIID	Zellen einer leichten bis mäßigen Dysplasie (CIN 1-2)
PAP IIIG	Drüsen- oder Stromazellen des Endometriums nach der Menopause mit nicht sicher beurteilbarer Dignität
PAP IV	Zellen einer mäßigen bis schweren Dysplasie oder eines Carcinoma in situ (CIN 2-3)
PAP V	Zellen eines vermutlich invasiven Zervixkarzinoms, Zellen eines Adenokarzinoms

1.4.1.1.2 ThinPrep®-Test

Der ThinPrep-Test ist das bekannteste und am weitesten verbreitete Verfahren der sogenannten Dünnschichtzytologie. Es handelt sich dabei um ein flüssigkeits-basiertes Abstrichverfahren der Firma Cytyc.

Zur Entnahme des Probenmaterials stehen dem Anwender unterschiedliche Entnahmegерäte zur Verfügung. Zum einen kann zur Anfertigung eines Abstrichs der Ektozervix ein Plastikspatel und für die Entnahme an der Endozervix eine endozervikale Bürste (Brush) verwendet werden, zum anderen gibt es die Möglichkeit mit einem kombinierten „besenartigen“ Entnahmegерät (Zervix-Broom) aus beiden Bereichen gleichzeitig Zellmaterial zu gewinnen.



Abbildung 2: Zervix-Broom zur Entnahme von Zellmaterial der Ekto- und Endozervix für die Dünnschichtzytologie (Firma Cytyc)

Das verwendete Entnahmegерät wird in weiterer Folge sorgfältigst in einem dafür vorgesehenen Behälter in einer speziellen Lösung (PreservCyt®) durch Drehen und Rühren ausgewaschen um so anhaftende Zellen des Abstrichmaterials zu lösen. Das Entnahmegерät wird daraufhin wieder aus dem Gefäß entfernt und dieses nach Kennzeichnung mit dem notwendigen Begleitformular mit den Daten der Patientin an das zuständige Labor versandt. Dort erfolgt mittels speziellen Prozessors (Bei Firma Cytyc: ThinPrep® 2000 Prozessor) eine Reinigung und Randomisierung der Probe und weiters eine Übertragung einer repräsentativen Zellpopulation auf einen Objektträger, und zwar in einer dünnen Zellschicht (Irrtümlich als Monolayer bezeichnet).

Diese Arbeitsschritte erfolgen automationsgestützt, was bei gleich bleibender Anfertigung eine gleich bleibende Qualität der Abstriche ermöglicht, im Gegensatz zum konventionellen Abstrich, bei dem die Güte der Abstriche untersucherabhängig variiert. Durch das beschriebene Verfahren können die zu untersuchenden Zellen von einem Teil der für die Beurteilung des Abstriches störenden Bestandteile wie Blut, Schleim oder Zelldetritus getrennt werden, bevor sie einer Beurteilung durch den Pathologen zugeführt werden. Dies ist einer der wesentlichen Vorteile der flüssigkeitsbasierten Zytologie im Vergleich zum konventionellen PAP-Abstrich und führt in der Folge zu einer geringeren Anzahl unklarer Abstrichbefunde der Gruppe PAP III (23). In Bezug auf die Sensitivität und Spezifität beim Vergleich mit konventionellem PAP-Abstrich gibt es in der Literatur sehr widersprüchliche Ergebnisse einzelner Forschungsgruppen und Länder (24). So gibt es Studien, die keine signifikante Verbesserung der Sensitivität bei Verwendung flüssigkeitsbasierter Zytologie ermittelten (25) und solche, bei denen sehr wohl eine Verbesserung in der Detektion hochgradiger Läsionen im Vergleich zu konventionellem PAP-Abstrich (26). Die Gründe für diese unterschiedlichen Auffassungen dürften an den von Land zu Land unterschiedlichen Gegebenheiten bei Screeningprogrammen liegen, in denen diese Studien durchgeführt wurden. Zahlreiche variable Faktoren beeinflussen den Erfolg eines Screeningprogrammes. So hängt beispielsweise die Detektionsrate von auffälligen Zervixbefunden von Faktoren wie der Sensitivität des Screenings, Krankheitsinzidenz, Bevölkerungsdichte, Screeningalter und Screeningintervall ab. Zwangsweise beeinflussen diese Faktoren in verschiedenen Ländern laufende Studien und erschweren so die Vergleichbarkeit (24).

Eine deutliche Verbesserung in der Detektion hochgradiger intraepithelialer Läsionen (HSIL) konnte durch die Verwendung des ThinPrep® Imager Systems in einer randomisierten Doppelblind-Studie im Jahr 2007 aufgezeigt werden. Dabei wurden die Ergebnisse des konventionellen PAP-Tests mit denen des ThinPrep® PAP-Tests verglichen. Die Abstriche der Dünnschichtzytologie wurden dabei computerassistent mit dem ThinPrep®Imager System vorgescreent. Das heißt, ein spezieller Prozessor des Systems wählt mittels Messung des DNA-Gehaltes der auf dem Objektträger befindlichen Zellen (optische Dichte der Zellkerne wird vermessen) die auffälligsten 22 Sichtfelder aus und speichert deren Koordinaten. An einem sogenannten Review Scope können diese markierten Sichtfelder von der CTA (Cytologisch-technische Assistent(in)) betrachtet und bei Vorhandensein von abnormalen Zellen diese für die weitere Betrachtung durch den

Pathologen markiert werden. (Cytoc Germany GmbH, 2007) Bei Verwendung eines solchen Systems konnten 1,29 mehr Patientinnen mit hochgradiger intraepithelialer Läsion (HSIL) pro 1000 Frauen detektiert werden als mit konventionellem PAP-Abstrich. Der Anteil an nicht auswertbaren Proben sankt im Vergleich um 42%.

Weiters konnte durch die Automatisierung von Teilschritten eine deutliche Erhöhung der Produktivität des bearbeitenden zytologischen Labors erreicht werden, was bei erhöhtem Durchlauf von zytologischen Abstrichen in weiterer Folge auch zu einer Kostensenkung führen wird (27). Dies ist auch eines der hauptsächlichen Argumente, in Screeningprogrammen der westlichen Welt den konventionellen PAP-Abstrich durch flüssigkeitsbasierte Zytologie zu ersetzen. In Großbritannien beispielsweise wird nach gründlicher Evaluation der Methode durch das National Institute of Health and Clinical Excellence die Einführung der Dünnschichtzytologie im Laufe des Jahres 2008 abgeschlossen sein (24).

Ein wesentlicher Vorteil der flüssigkeitsbasierten Zytologie ist die Möglichkeit der parallelen und Reflextestung auf humane Papillomviren, aber auch bakterielle Erreger wie *Neisseria gonorrhoeae* und *Chlamydia trachomatis*.

1.4.1.2 HPV-DNA Test

Da nachweislich in fast allen Fällen von Zervixkarzinomen und auch Vorläuferläsionen die DNA von humanen Papillomviren gefunden werden kann (28), und die Kanzerogenität des Erregers bis auf molekulare Ebene bereits erforscht und bewiesen ist, liegt es nahe, nach dem Auslöser der Erkrankung selbst zu suchen. Unterstützt wird diese Idee vor allem durch das relativ schlechte Abschneiden der zytologischen Screeningverfahren. Haben diese durch ihre Einführung die Inzidenz des Zervixkarzinoms noch deutlich gesenkt, stellt sich heute bei Durchführung von ausgereiften Screeningprogrammen mit Patientinnen die ein regelmäßiges Screening in Anspruch nehmen, aber auch solchen, die einem regelmäßigen Screening nicht zugänglich sind, die Frage, auf welchem Weg eine Verbesserung der Suchmethode erfolgen kann um auch jene Patientinnen rechtzeitig zu erkennen, die trotz negativem zytologischen Befund ein Zervixkarzinom entwickeln.

Die Schwächen des zytologischen Tests liegen hauptsächlich in der Abhängigkeit von der Qualität der entnommenen Probe, der sehr subjektiven Beurteilung des Abstriches und Interpretationsfehlern bei wiederholtem Screening (20). Hier nimmt der HPV-DNA Test

eine bedeutende Stellung ein, indem er bei unklaren Befunden als zusätzliche Untersuchungsmaßnahme bei der Identifikation von Risikopatienten dienen kann, durch seine in mehreren Studien belegte gute Sensitivität (96% vs. 53% bei Zytologie) jedoch auch als primäres Screeninginstrument zur Diskussion steht (20). Mit ihm gelingt es, Frauen mit einer Infektion der Cervix mit HPV zu erkennen, indem nach der DNA des Erregers gesucht wird. Diese geschieht beim häufig verwendeten Hybrid Capture® 2 HPV-Test der Firma Digene über die Verwendung einer RNA-Sonde, die der Erkennung spezieller DNA-Sequenzen des Virus dienen soll.

1.4.1.2.1 Durchführung des HC-2 HPV DNA-Tests

Nachdem aus der zu untersuchenden Probe über die Zugabe von Alkali die Ziel-DNA aus den Zellen freigesetzt und von Doppel- in Einzelstränge aufgespalten wurde, gelangen diese in einen Behälter, in welchen auch die vorher erwähnte RNA-Sonde gegeben wird die eine exakt komplementäre Basensequenz zur gesuchten Ziel-DNA hat, an welche sie sich bei Vorhandensein auch bindet. Es kommt unter Zufuhr von Hitze zu einer Hybridisierung aus der die Bildung von doppelsträngigen RNA-DNA-Hybridkomplexen hervorgeht. Die Probe wird anschließend in einen speziellen Behälter transferiert, dessen Oberfläche mit einem Antikörper beschichtet ist, der die Hybridkomplexe an sich bindet. Es folgt die Zugabe eines weiteren Antikörpers, der an die gebundenen Hybridkomplexe bindet und mit dem Enzym alkalische Phosphatase markiert ist. Nach Waschung und Entfernung aller nicht fixierten Komponenten wird ein Substrat hinzugefügt, das bei Spaltung durch die alkalische Phosphatase Licht emittiert, welches mit einem Luminometer gemessen werden kann. (Quelle: Digene Deutschland GmbH)

Nahezu jede sexuell aktive Frau kommt zumindest einmal in ihrem Leben mit Humanen Papillomviren in Kontakt. Diese Infektionen verlaufen allerdings zum größten Teil durch eine suffiziente Immunabwehr der Patientin transient. Eine besonders hohe Prävalenz von HPV-Infektionen zeigt sich in der Altersgruppe der 20 – 30 jährigen Frauen, mit einem Gipfel um das 20 – 25. Lebensjahr (20). Danach sinkt die Prävalenz bis zum 40. Lebensjahr und hält sich dann auf niedrigem Niveau.

Die Suche nach HPV-DNA zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität, und zwar über alle Altersgruppen aus. Durch die hohe Prävalenz an transienten HPV-Infektionen bei jungen Frauen würden auch viele Personen detektiert werden, deren Infektion keine gesundheitliche Relevanz hätte. Die HPV-DNA Untersuchung richtet sich daher vor allem

an Frauen über dreißig Lebensjahre, von denen anzunehmen ist, das bei vorliegender Infektion diese eine Persistenz aufweist, und damit das Risiko für eine maligne Entartung vorliegt. Als medianen Zeitraum für die Clearance von HPV-Infektionen, also das Verschwinden des Virus wurde in mehreren Screeningstudien ein Zeitraum von etwa 6 — 18 Monaten ermittelt (17). Es gibt keine allgemein akzeptierte definierte Zeitdauer, für die angenommen wird, dass sie das Krebsrisiko steigere, die Wahrscheinlichkeit einer Zellentartung steigt jedoch mit zunehmender Dauer, sodass bei einer Infektion von 12 -18 Monaten bereits mit einem im Vergleich zu HPV negativen Frauen etwa 300-fach höheren Risiko einer malignen Entartung der Zervix uteri gerechnet werden muss. (29)

Die Kombination von flüssigkeitsbasierter Zytologie und HPV-DNA Nachweis (DNA PAP) könnte die Sensitivität, (prä-)kanzeröse Läsionen zu entdecken noch weiter verbessern, mit einem negativ prädiktiven Wert von 1 (100%) (6). Damit wären zwar die Kosten für einen einzelnen Test höher, wegen der Sicherheit des Tests könnte aber bei negativem Testergebnis das Screeningintervall durchwegs verlängert werden. (30)

1.4.2 Kolposkopie

Bei der Kolposkopie kann die Portio, welche mit Hilfe von Spekula eingestellt werden muss, mit einer bis zu 40-fachen Vergrößerung (Lupenvergrößerung) betrachtet werden. Es handelt sich beim Kolposkop um ein flexibles Mikroskop, welches eine starke Lichtquelle besitzt und aufgrund seiner großen Brennweite vor der Vulva plaziert werden kann. Durch die lupenvergrößernde Betrachtung können auf der Portio cervicis uteri und auch angrenzenden Vagina entsprechende Auffälligkeiten der Oberfläche detektiert werden und Abstriche, aber auch Biopsien des Zielgebietes entnommen werden. Die Kolposkopie stellt damit das Untersuchungsverfahren dar, welches auffällige Screeningbefunde wie einen positiven PAP-Abstrich (rez. PAP IIID, PAP IV) abzuklären hilft.

In Regionen der Erde, in welchen die medizinischen Ressourcen knapp sind und kontrollierte Screeningprogramme nur in sehr eingeschränktem Rahmen möglich sind, findet die Kolposkopie auch als primäres Screeningverfahren Anwendung (31,32). Dabei ist sie für die Untersuchung von Frauen von Bedeutung, die aufgrund der örtlichen Gegebenheiten einem regelmäßigen Screening nicht zugeführt werden können, aber auch bei positivem Screeningbefund kein zweites Mal zur weiteren Untersuchung und Abklärung einberufen werden können.

Zur Durchführung der Kolposkopie stehen zwei Lösungen zur Auswahl, die helfen sollen, pathologische Befunde des Epithels aufzuklären. Zum einen wird die Portio nach Reinigung mit einem Wattebausch mit 3%iger Essigsäurelösung betupft. Atypisch veränderte Epithelien stellen sich nach etwa einer halben Minute in weißlicher Farbe plaqueartig dar und heben sich von der rötlichen Färbung des normalen Epithels kontrastreich ab.

Eine noch bessere optische Abgrenzung gelingt durch die anschließende Betupfung mit 4%iger Lugol-Jod-Lösung. Das Jod reichert sich vor allem in Bereichen hohen Glykogengehalts an und färbt diese Bereiche dunkelbraun. Atypische Zellen enthalten kein Glykogen und bleiben bei der Verabreichung von Jod hellbraun, ockerfarben.

Ergibt sich in der kolposkopischen Untersuchung ein auffälliger Befund oder bestätigt die Kolposkopie eine verdächtige Zytologie, muss zur weiteren Sicherung eine histologische Untersuchung der Zervix durchgeführt werden.

1.4.3 Histologische Untersuchung

Um aus der Zervix uteri eine Gewebeprobe für eine histologische Untersuchung zu gewinnen stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. Abhängig von der Lokalisation der auffälligen Läsion entscheidet sich der Untersucher für eines der angeführten Verfahren (10):

Tabelle 2: Mögliche Arten der Gewebeprobengewinnung

Möglichkeiten zur Gewinnung von Gewebeproben
<ul style="list-style-type: none"> • Gezielte Biopsie
<ul style="list-style-type: none"> • Elektrochirurgische Schlingenresektion
<ul style="list-style-type: none"> • Zervixkürettage
<ul style="list-style-type: none"> • Konisation (Hochfrequenzschlingenkonisation, Laserkonisation, Messerkonisation) und Koagulation der Abtragungsfläche

So ist die Zervixkürettage vor allem bei suspektem Intrazervikalabstrich erforderlich. Die Konisation kann bei entsprechend frühem Einsatz bei präinvasiven Läsionen nicht nur als Diagnostikum sondern gleichzeitig auch als Therapie dienen. Aufgrund möglicher schwerwiegender Komplikationen, wie Nachblutungen oder Zervixstenose bzw. möglicher Zervixinsuffizienz, ist die Indikation dafür streng zu stellen (10).

1.5 Von der CIN zum invasiven Karzinom

Ausgangspunkt der Entwicklung eines atypischen Epithels bilden vor allem die Basalzellen des mehrschichtig unverhornten Plattenepithels der Zervix, speziell im Bereich der Transformationszone. Diese Zellen bilden die unterste Lage des Epithels und liegen der Basalmembran auf, welche die Epithelzellen von der Dermis trennt. Von dieser genannten Basalzellschicht aus erfährt, das Epithel auch seine Regeneration, indem es dort zur Zellteilung kommt, und junge Zellen kontinuierlich an die Epitheloberfläche wandern. Über Läsionen des Plattenepithels, welche die Kontinuität des Zellverbandes stören, ist es Viruspartikeln von humanen Papillomviren möglich, über die Epitheloberfläche an die Basalzellen zu gelangen und diese zu befallen. Es finden sich dabei abhängig vom Virusstamm und der Dauer der Infektion mit HPV zwei Möglichkeiten für das Virus, seine DNA, beziehungsweise ganze Viruspartikel zu vermehren.

Zum einen besteht die Möglichkeit, dass die HPV-DNA außerhalb des Zellkerns der Wirtszelle in Form von Episomen abgelagert wird. Dort beginnt in der Basalzellschicht auch die Replikation der DNA, eingeleitet durch die Expression der frühen Virusgene E1, E2, E4, E5, E6 und E7 (14). Zu einem weiteren Zeitpunkt, an dem sich die befallenen Wirtszellen aufgrund der Zellteilung der Basalzellschicht bereits in die mittlere oder oberflächliche Epithelschicht verlagert haben, werden neben der fortlaufenden Genomreplikation auch späte Virusgene, wie L1 und L2 exprimiert. Diese haben als Aufgabe, die Virus-DNA in eine Kapsel zu hüllen und komplettieren die Replikation des Virus, welches fertig zusammengesetzt, eine erneute Infektion initiieren kann.

Die zweite Form ist die Integration des Virusgenoms in das Genom der Wirtszellen in dessen Kern. Bei Integration auf Höhe der Virusgene E1 und E2 kommt es durch den Verlust der Funktion des Proteins E2 als Regulator zu einer Überexpression der Produkte von E6 und E7, und zu einem Wachstumsvorteil der betroffenen atypischen Zellen – ein invasives Zervixkarzinom kann entstehen (11,14).

Europaweit erfolgt eine Einteilung der CIN (Cervicalen Intraepithelialen Neoplasie) in drei Schweregrade, wobei CIN 1 die leichteste intraepitheliale Veränderung bezeichnet, CIN 3 die schwerste vor dem invasiven Karzinom. Um atypische Zellen innerhalb des Epithelverbandes zu identifizieren dienen Zeichen von Kernatypien, wie Vergrößerung des Zellkerns, Pleomorphismus und Hyperchromasie als Hinweis auf vermehrte

Stoffwechselaktivität des Kerns (Mitoseaktivität) (13). Das Ausmaß an Kernatypien ist bei CIN 3 wesentlich höher als bei CIN 1-Läsionen.

Die Bezeichnung CIN 1 findet Verwendung, wenn lediglich das basale Drittel des zervikalen Plattenepithels genannte Kernatypien aufweist. Ist das mittlere Drittel ebenso betroffen liegt eine CIN 2 vor. Im Falle einer CIN 3 ist eine normale Zellreifung kaum bis gar nicht mehr nachzuweisen. Kernatypien finden sich im gesamten Querschnitt des Epithels, ein Durchbruch von atypischen Zellen durch die Basalmembran mit Invasion in das umliegende Bindegewebe findet aber nicht statt.

Es entwickelt sich aber nicht jede beginnende zervikale intraepitheliale Neoplasie in ein fortgeschrittenes Stadium oder invasives Karzinom. Bei einer CIN 1 kommt es in 60% der Fälle zu einer spontanen Regression, bei einer CIN 2 immer noch in 40% der Fälle (33).

Tabelle 3: Zervikale intraepitheliale Neoplasien im Verlauf

Grad	Regression %	Persistenz %	Progression zu CIN3/Karzinom %
CIN 1	60	30	10
CIN 2	40	40	20
CIN 3	33	55	12

Bei CIN 3-Läsionen wird nur mehr in 33% der Fälle ein spontaner Rückgang beobachtet, das Risiko einer invasiven Erkrankung steigt von 1% (CIN 1) und 5% (CIN 2) auf 12%.

1.6 Stadieneinteilung nach FIGO und andere Klassifikationen

Die Stadieneinteilung des Zervixkarzinoms kann nach zwei verschiedenen Klassifikationen erfolgen. Eine ist die so genannte TNM-Klassifikation, welche bei allen Tumorentitäten des menschlichen Körpers Verwendung findet und durch die UICC (Union Internationale contre le Cancer), die Organisation, von welcher die Stadieneinteilung ausgeht in regelmäßigen Abständen aktualisiert wird. Bei der anderen Klassifikation handelt es sich um jene der FIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique), welche ausschließlich Tumoren des weiblichen Genitaltraktes klassifiziert. Die Stadien der FIGO-Klassifikation basieren großteils auf chirurgischem Staging während die TNM-Klassifikation klinische, beziehungsweise pathologische Kriterien benötigt.

Vorraussetzung zum Staging ist die sorgfältige klinische Untersuchung der Patientin. Dazu gehören folgende Untersuchungen:

Tabelle 4: Staginguntersuchungen bei vorliegendem Zervixkarzinom

Staginguntersuchungen bei der Diagnose Zervixkarzinom
• Inspektion
• Palpation
• Zystoskopie
• Proktoskopie
• i.v.-Urographie, bzw. Sonographie
• Röntgenuntersuchung der Lungen und des Skeletts

Bei klinischem Verdacht auf eine mögliche Beteiligung der Harnblase oder des Rektums sollte eine Biopsie und histologische Kontrolle angeschlossen werden (34).

Optionale Untersuchungen, wie erweiterte Bildgebung (Ultraschall, CT, MR, PET) oder explorative Laparoskopie können für die Therapieplanung von Nutzen sein, haben aber für das Staging keine Bedeutung (34).

Wurde der Tumor operativ entfernt, kann das gewonnene Präparat vom Pathologen mit Hilfe der TNM-Klassifikation eingeteilt werden. Diese berücksichtigt neben der Ausdehnung des Primärtumors („T“) auch das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen („N“) und von Fernmetastasen („M“).

Tabelle 5: Tumorklassifikation nach FIGO und UICC (TNM)

FIGO	Tumorausdehnung	TNM
	Primärtumor kann nicht beurteilt werden	Tx
0	Kein Hinweis auf Primärtumor	T0
IA	Mikroskopisch diagnostiziertes Karzinom	T1a
IA1	Stromainvasion <3 mm Horizontale Ausdehnung <7 mm	T1a1
IA2	Stromainvasion 3 -5 mm Horizontale Ausdehnung <7 mm	T1a2
IB	Makroskopisch sichtbarer od. mikroskopisch diagnost. Tumor >T1a2	T1b
IB1	Klin. sichtbarer Tumor <4cm in größtem Durchmesser	T1b1
IB2	Klin. sichtbarer Tumor >4cm in größtem Durchmesser	T1b2
II	Uterus überschritten, Beckenwand u. unteres Drittel der Vagina frei	T2
IIA	Befall d. Vagina, Parametrien frei	T2a
IIB	Parametrien oder Parametrien u. Vagina befallen	T2b
III	Tumor breitet sich auf Beckenwand u./od. unteres Drittel der Vagina aus u./od. bedingt eine Hydronephrose od. Nierenversagen	T3
IIIA	Tumor breitet sich auf das untere Drittel der Vagina aus, Beckenwand frei	T3a
IIIB	Tumor breitet sich auf die Beckenwand aus u./od. verursacht eine Hydronephrose oder Nierenversagen	T3b
IVA	Tumor infiltriert die Blasen- oder Rektumschleimhaut u./od. breitet sich jenseits des Beckens aus	T4
IVB	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden	Nx
	Kein Hinweis auf regionäre Lymphknotenmetastasen	N0
	Regionäre Lymphknotenmetastasen	N1
	Kein Hinweis auf Fernmetastasen	M0
	Fernmetastasen	M1

1.7 Therapie des Zervixkarzinoms

Die Therapie des Zervixkarzinoms gestaltet sich abhängig vom prätherapeutisch erhobenen Tumorstadium nach FIGO (34).

1.7.1 Mikroinvasives Karzinom

Dabei kann eine Beschreibung eines mikroskopisch sichtbaren Tumors des Stadiums IA (IA1 und IA2) nur bei gewonnenem histologischem Präparat, sei es durch eine Trachelektomie, Hysterektomie oder Konisation erfolgen. Sind die Resektionsränder des Konus nicht frei von atypischen Zellen, muss das Tumorstadium mit pTx oder als non in sano bezeichnet werden (35). Im Rahmen einer durchzuführenden Kolposkopie sollte eine mögliche vaginale intraepitheliale Neoplasie ausgeschlossen werden. Die Therapieempfehlungen der FIGO sind:

Tabelle 6: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 1

Stadium	Maßnahmen
IA1	In diesem Stadium ist eine totale abdominale oder vaginale Hysterektomie , oder bei Wunsch nach Erhalt der Fertilität eine Konisation durchzuführen. Im Falle einer Konisation wird anschließend eine engmaschigere zytologische Kontrolle mit PAP-Abstrichen empfohlen.
IA2	Da bei diesem Stadium eine Beteiligung von Lymphknoten nicht ausgeschlossen werden kann, soll – wenn eine LVSI vorliegt - eine Lymphadenektomie der pelvinen Lymphknoten erfolgen. Im Rahmen einer radikalen Hysterektomie oder Trachelektomie soll die Zervix entfernt werden. Für fertilitätserhaltendes Vorgehen bieten sich zwei Möglichkeiten: <ul style="list-style-type: none"> • Zervixamputation (Trachelektomie) mit einer extraperitonealen od. laparoskopischen Lymphadenektomie der pelvinen Lymphknoten. • Radikale Trachelektomie mit einer extraperitonealen od. laparoskopischen Lymphadenektomie der pelvinen Lymphknoten.

1.7.2 Invasives Karzinom

Das Stadium IB definiert einen Tumor, der makroskopisch sichtbar ist, erfordert aber ebenso eine Biopsie zur Erhärtung der Diagnose. Im Falle der Detektion eines Tumors von diesem Ausmaß muss ein Staging der Patientin, wie bereits weiter oben aufgelistet, durchgeführt werden um eine Beteiligung der Nachbarorgane oder eventuelle Metastasierungen auszuschließen.

Tabelle 7: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 2

Stadium	Maßnahmen
IB1, IIA < 4cm	Abhängig von Faktoren wie dem Alter und dem Allgemeinzustand der Patientin, sowie gegebener Ressourcen kann eine Entscheidung zu chirurgischen oder strahlentherapeutischen Vorgehen getroffen werden. <ul style="list-style-type: none"> • Modifizierte radikale od. radikale abdominale Hysterektomie und pelvine Lymphadenektomie. Bei jungen Patientinnen können bei geplanter postoperativer Bestrahlung zum Funktionserhalt die Ovarien aus dem Bestrahlungsfeld genommen werden. • Strahlentherapie: Externe Beckenbestrahlung und Brachytherapie

Als adjuvante Therapie nach chirurgischer Intervention kann beim Vorliegen von Risikofaktoren für ein Rezidiv wie großes Tumervolumen, positive Lymphknoten, parametrische Infiltration oder befallene Resektionsränder eine kombinierte Radiochemotherapie mit 5-FU und Cisplatin oder Cisplatin alleine erfolgen, welche das Überleben der Patientinnen im Vergleich zur ausschließlichen Bestrahlung deutlich verbessert. Bereits die adjuvante Bestrahlung des kompletten Beckens in diesem Stadium

alleine verbessert das progressionsfreie Überleben der Patientinnen im Vergleich zur ausschließlich chirurgisch behandelten Gruppe. Besonders bei Zervixkarzinomen mit adeno- oder adenosquamöser Differenzierung zeigt die Strahlentherapie ein besonders gutes Ansprechen.

Tabelle 8: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 3

Stadium	Maßnahmen
IB2 – IIA > 4cm	<p>Als mögliche Therapieoptionen stehen zur Verfügung:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Primäre Chemoradiatio • Primäre radikale Hysterektomie und bilaterale pelvine Lymphadenektomie (gefolgt von adjuvanter Bestrahlung) • Neoadjuvante Chemotherapie (Cisplatin, Vincristin) und radikale Hysterektomie und pelvine Lymphadenektomie mit/ohne postoperative Bestrahlung oder Chemoradiatio

Das meist verwendete Verfahren mit dem höchsten Evidenzgrad besitzt die primäre Chemoradiatio, bei welcher neben der externen Bestrahlung und lokalen Brachytherapie eine wöchentliche Verabreichung von Cisplatin erfolgt. Bei Beteiligung der iliakalen oder paraaortalen Lymphknoten wird das Bestrahlungsfeld ausgeweitet.

Der Vorteil des chirurgischen Eingriffs liegt in der Möglichkeit, ein chirurgisches Staging zu erhalten und den Primärtumor plus auffällige Lymphknoten zu reseziieren. Für gewöhnlich hat aber aufgrund der Ausdehnung des Tumors eine adjuvante Bestrahlung nach der Operation zu erfolgen.

Diverse Studien zeigen ein besseres Abschneiden einer neoadjuvanten Chemotherapie (Cisplatin, Vincristin) und anschließender Operation im Vergleich zu einer primären Strahlentherapie. Die Datenlage ist jedoch diesbezüglich noch recht bescheiden, auch fehlen Daten, die das Abschneiden einer kombinierten Chemoradiotherapie mit einer neoadjuvanten Chemotherapie und anschließender chirurgischer Resektion vergleichen.

1.7.3 Fortgeschrittene Stadien des invasiven Zervixkarzinoms

Ab dem Stadium IIA ist ein chirurgisches Vorgehen nur mehr in Ausnahmefällen vorgesehen, beispielsweise im Rahmen einer Exenteration bei rekto- oder vesikovaginaler Fistelbildung. Therapie erster Wahl ist eine kombinierte Chemoradiatio mit externer Bestrahlung, Brachytherapie und Cisplatingabe.

Tabelle 9: Stadiumabhängige Therapieempfehlungen nach FIGO, 4

Stadium	Maßnahmen
IIB, III, IVA	Externe Bestrahlung und Brachytherapie , kombiniert mit Chemotherapeutikum (Cisplatin). Ausgedehnteres Bestrahlungsfeld im Falle von positiven iliakalen oder paraaortalen Lymphknoten
IVB	Mit einem Wiederauftreten des Karzinoms im Bereich des Beckens oder als Fernmetastase ist am ehesten innerhalb von 2 Jahren nach Diagnose zu rechnen. In diesem Fall ist das Überleben der Patientin stark beeinträchtigt und eine Kontrolle der entstandenen Symptome wie Schmerzen, Blutungen, Kachexie, im optimalen Fall durch ein multidisziplinäres Management, steht im Vordergrund (Palliative Care)

1.7.4 Operative Verfahren beim Zervixkarzinom

Abhängig vom Stadium der Erkrankung und dem Zustand der Patientin ergeben sich unterschiedliche Möglichkeiten von standardisierten operativen Verfahren, welche in den Empfehlungen der FIGO vorkommen und in diesem Kapitel näher erläutert werden sollen. Sie sind abhängig von ihrer Radikalität aufsteigend geordnet.

1.7.4.1 Radikale Trachelektomie (Operation nach Dargent)

Die radikale Trachelektomie (Trachelos = [Gebärmutter-]Hals, -ektomie = Entfernung) bezeichnet ein im Jahre 1994 von Dargent entwickeltes Operationsverfahren, welches Frauen mit potentiellm Kinderwunsch eine fertilitätserhaltende Behandlung des Zervixkarzinoms ermöglicht. Die Methode richtet sich dabei an Patientinnen früher Tumorstadien mit Karzinomen kleinen Volumens, für die auf der einen Seite eine alleinige Konisation nicht ausreichend radikal wäre um die Rezidivwahrscheinlichkeit zu minimieren, auf der anderen Seite eine Hysterektomie oder Wertheim OP aufgrund ihrer Radikalität eine Überbehandlung und Fertilitätsverlust der Patientin bedeuten würde.

1.7.4.1.1 Technik der radikalen Trachelektomie

Die Operation erfolgt transvaginal und umfasst die Entfernung von etwa zwei Drittel der Cervix uteri mit Wegnahme von etwa der Hälfte des angrenzenden Parametriums, das entspricht einer Radikalität vom Typ 2 nach Klassifikation von Piver. Der verbleibende Zervixstumpf wird, um einer drohenden Zervixinsuffizienz vorzubeugen, mit einer Cerclage gesichert und im Anschluss eine Readaptation mit der Vagina durchgeführt. Auf laparoskopischem Weg werden in derselben Operation noch die parametranen und pelvinen Lymphknoten entfernt.

Der schwierigste operative Schritt ist die über die Vagina erfolgende Aufsuchung und Darstellung der Ureteren, welche auf jeden Fall zu schonen sind. Die Absetzung der Parametrien darf daher erst bei Sicherung der beiden Ureteren erfolgen und zwar medial davon unter Mitnahme des Ramus descendens der Arteria uterina. Der verbleibende aufsteigende Ast dieser Arterie gewährleistet die weitere Durchblutung der verbleibenden Gebärmutteranteile. Die Amputation der Zervix erfolgt auf Höhe des Isthmus cervicis uteri.

Die Fertilität der behandelten Patientinnen bleibt durch diesen operativen Eingriff erhalten, allerdings ist die Schwangerschaftsrate durch die veränderten morphologischen Gegebenheiten des Uterus etwas verringert (70 - 80%) (36,37). Weiters steigt durch die fehlende Schutzfunktion der Zervix das Risiko aufsteigender Infektionen während der Schwangerschaft, weshalb ein kompletter Verschluss des Zervixstumpfes in der Frühschwangerschaft empfohlen wird. Die Entbindung muss auf jeden Fall aufgrund der Cerclage operativ im Rahmen einer Sectio caesarea erfolgen. Die inneren Genitalorgane werden dank der laparoskopischen Lymphadenektomie nicht durch postoperative intraperitoneale Verwachsungen beeinträchtigt.

1.7.4.2 Hysterektomie (Modifizierte Klassifikation von Piver)

Für die Behandlung kurativer Stadien von Zervixkarzinomen ergeben sich verschiedenste mögliche chirurgische Interventionen, welche bereits im Jahre 1974 durch Piver, Rutledge und Smith (38) in 5 Klassen unterteilt, und so in weiten Teilen der Welt durch ihre Verbreitung zu einer Standardisierung der Operationstechniken führen sollte. Versuche diese Klassifikation im Sinne eine Verbesserung zu modifizieren führten wieder zu einer Veruneinheitlichung, was die Vergleichbarkeit auswertbarer Daten auf internationalem Niveau erschwerte.

Die Gynecological Cancer Group (GCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) machte es sich deshalb 2007 zur Aufgabe, die ursprüngliche Klassifikation radikaler Hysterektomien im Sinne einer besseren klinischen Durchführbarkeit, Verwertbarkeit und Standardisierung zumindest für den Raum Europa zu revidieren (39). Die vorliegende Klassifikation besteht nach wie vor aus 5 unterschiedlichen Gruppen, definiert aber das chirurgische Procedere genauer als bisher:

- 1. Einfache Hysterektomie (Typ I):** Bezeichnet die totale extrafasziale abdominale Hysterektomie mit minimaler Entfernung der Parametrien.

2. **Modifizierte radikale Hysterektomie (Typ II):** Nach Darstellung und Ablösung der Ureteren bis zu ihrer Mündung in die Harnblase werden der Uterus, parazervikales Gewebe und die obere Vagina (1 - 2 cm) entfernt. Die Aa. uterinae werden ligiert und die mediale Hälfte der Parametrien und die proximalen uterosakralen Bänder werden reseziert.

3. **Radikale Hysterektomie (Typ III):** En bloc-Entfernung des Uterus mit dem oberen Drittel der Vagina und dem paravaginalen und parazervikalen Gewebe. Die uterinen Gefäße werden an ihrem Ursprung ligiert, das gesamte Parametrium wird bilateral entfernt. Ebenso wird der größtmögliche Anteil der uterosakralen Bänder reseziert.

4. **Ausgedehnte radikale Hysterektomie (Typ IV):** Unterschied zu Typ III ist die Entfernung von drei Vierteln der Vagina und des paravaginalen Gewebes.

5. **Teilweise Exenteration (Typ V):** Die distalen Anteile des Ureters oder Anteile von Harnblase oder Rektum werden zusammen mit dem Uterus und dem Parametrium entfernt.
 - A) Die Hysterektomien vom Typ II – V werden durch eine systematische bilaterale pelvine Lymphadenektomie vervollständigt. Dabei enthalten sind: Die halbe Strecke der A. iliaca communis bis zum Femoralring inklusive präsakrale, beidseitige Externa-, Interna- und Interiliacale plus Obturatorius-Lymphknoten (bis auf Höhe des gleichnamigen Nerves)

 - B) Die Entfernung der Tuben und Ovarien ist kein Teil der radikalen Hysterektomie per se.

1.8 Prognose des Zervixkarzinoms

Um den Verlauf eines diagnostizierten Zervixkarzinoms mit einiger Sicherheit vorhersagen zu können, bieten sich zahlreiche prognostische Faktoren an, welche durch bereits in der Vergangenheit durchgeführte Studien als statistisch signifikant für das Überleben der Patienten bewertet wurden (2,40):

Tabelle 10: Traditionelle Prognosefaktoren des Zervixkarzinoms (2006)

Prognosefaktor	Beschreibung
FIGO Stadium	Ausdehnung des Tumors in d. Region (Parametrium, Vagina)
Lymphknotenmetastasierung	Zahl positiver Lymphknotenstationen
Tumorvolumen	-
Lymphgefäßinvasion	Einbruch in Lymphgefäße
Histologische Differenzierung	Plattenepithel- vs. Adenokarzinom

Als bedeutende prognostische Faktoren, welche die Dimension des Tumors in Bezug auf die Morphometrie genauer berücksichtigen, wurde mit Anwendung statistischer Verfahren bereits in der Vergangenheit (1988) ein Ranking morphologischer Kriterien gestaltet, um eine Abschätzung des Überlebens nach Zervixkarzinom machen zu können (2).

Basierend auf der Vermessung histologischer Großflächenschnitte von Zervixkarzinomen, bei denen auch eine Abschätzung des Volumens der Cervix uteri durchgeführt wurde, galt als wesentlichster Survival-Faktor das Verhältnis von Tumor- zu Zervixvolumen, der so genannte Tumor-Zervix-Quotient. Dieser beschreibt prozentual die Ausdehnung des Tumors (den Anteil des Tumors) in der Cervix uteri und berücksichtigt die Wahrscheinlichkeit, das ein Tumor mit vorgegebener Größe in einer kleinen Zervix (=hoher Tumor-Zervix-Quotient) die Randzone in das Parametrium eher durchbricht, als ein Tumor derselben Größe in einer großen Zervix (=kleiner Tumor-Zervix-Quotient) (41).

Ein weiteres ergänzendes morphologisches Kriterium des Tumors stellt seine Wachstumsform dar. Dabei lassen sich grob mit exophytischem, endophytischem, endo-exophytisch gemischtem und endozervikalem Wachstum vier verschiedene Wachstumsmuster unterscheiden. Mehrere Studien legten darauf besonderes Augenmerk und ermittelten die exophytische Wachstumsform des Karzinoms als negativen prognostischen Faktor (2,42,43). Beispielsweise betrug in der Arbeit von Pickel et al. einer Untersuchung an 359 Patientinnen das Fünfjahresüberleben bei Tumoren mit exophytischem Wachstum lediglich 65%, während Karzinome mit endophytischem Wachstum mit 81,2% die beste Fünfjahresüberlebensrate aufwiesen, gefolgt von endozervikalen Tumoren mit 80,3%.

Tabelle 11: Signifikante morphologische Prognosefaktoren in absteigender statistischer Signifikanz (Pickel et al, 1988)

Morphologische Prognosefaktoren
1. Tumor-Zervix-Quotient
2. Anzahl positiver Lymphknotengruppen
3. Bindegewebsinfiltration
4. Exophytisches Wachstum des Tumors
5. Beteiligung des Parametriums
6. Lymphknotenbeteiligung
7. Zahl der nachgewiesenen Mitosen

In jüngerer Vergangenheit konnten auch auf molekularer Ebene Faktoren bestimmt werden, die es ermöglichen, das Überleben bzw. die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs vorhersagen zu können. Dazu gehört zum einen ein sauerstoffarmes Milieu des Tumors, verursacht durch äußere Faktoren, wie die tumorassoziierte Anämie des Patienten, welche die Effektivität einer potentiell durchgeführten Radiotherapie abschwächt (44), und zum anderen hypoxische Tumorareale, welche per se auch in anderen Körperregionen wegen Zeichen einer zunehmenden Resistenz gegen Apoptose und erhöhtem Risiko eines invasiven Fortschreitens bzw. einer Metastasierung aufgrund verringerter Differenzierung, mit einem schlechteren Überleben vergesellschaftet sind (45). Eine Messung der Oxygenation der Tumorregion kann zum einen über Nadelelektroden erfolgen (Eppendorf Histografie) oder über immunhistochemische Verfahren bzw. einen intrinsischen Marker (HIF-1 α = hypoxia-inducible transcription faktor 1, α -Untereinheit) welcher durch immunhistochemische Verfahren detektiert werden kann. Im Falle einer Sauerstoffmangelsituation tritt dieser Transkriptionsfaktor vermehrt in Kernumgebung auf und bindet an Genregionen, die zum einen durch ihre Funktion (Erythropoiese, Angiogenese etc.) den Zustand der Hypoxie zu überwinden versuchen, zum anderen allerdings auch das Wachstum und Überleben der Tumorzellen positiv beeinflussen und daher die Prognose der Patientinnen verschlechtern (46).

Eine weitere prognostische Rolle spielt die Gefäßversorgung des Tumors, respektive seine Tendenz, die Bildung neuer Gefäße zu seiner Versorgung zu stimulieren. Da die Angiogenese des Tumors ein dynamischer Prozess ist, wurde bereits in der Vergangenheit die prognostische Bedeutung der Gefäßneubildungen anhand des Endproduktes, der Dichte an kleinsten Gefäßen (MVD = microvessel density) bestimmt und mit dem Überleben der Patientinnen in Zusammenhang gebracht (47). Die Bestimmung der MVD erfolgt dabei

meistens durch die Beurteilung des sogenannten vascular hot-spots, also derjenigen Region histologischer Schnitte in geringer optischer Vergrößerung, die durch Endothelmarker (CD31, CD34 etc.) immunhistochemisch markiert die größte Zahl an Kapillargefäßen aufweisen (48-50). Zahlreiche Studien konnten bereits eine erhöhte MVD als unabhängigen prognostischen Faktor für ein schlechteres krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben bei zervikaler Neoplasie identifizieren (47,49,50).

Neben der Dichte an Kapillargefäßen kommt dem Nachweis gefäßspezifischer Wachstumsfaktoren eine besondere Rolle zu. Ein wesentlicher Marker dabei ist VEGF (vascular endothelial growth factor), der mit erhöhter MVD in Zusammenhang steht. Er kommt in hohen Konzentrationen vor allem bei hochgradigen intraepithelialen Läsionen der Zervix und invasiven Formen des Karzinoms vor (51). Seine große klinische Signifikanz zeigt VEGF bei der Erschließung neuer Therapieformen, indem durch einen spezifischen Antikörper (Bevacizumab = Avastin) eine Angiogenese und ein Progression des Tumorwachstums selbst bei fortgeschrittenem Stadium eingedämmt werden kann (52,53).

Untergruppen des VEGF (VEGF-C, VEGF-D, VEGFR-3) zeigen sich außerdem für die Neubildung von Lymphgefäßen verantwortlich. Die Lymphangiogenese des Tumors, ebenso über die Dichte an Lymphgefäßen (lymphatic vessel density) definiert, wird besonders bei peritumorale Lokalisation, im Gegensatz zu intratumorale, mit besonders hoher Wahrscheinlichkeit einer Lymphknotenmetastasierung und schlechtem krankheitsfreiem und Gesamtüberleben in Verbindung gebracht (54,55).

1.9 Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit soll es sein, anhand histologischer Präparate von Zervixkarzinomen aus dem Patientenkollektiv der Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe Graz eine exakte computergestützte Größenvermessung der Tumore durchzuführen. Dafür wurde eigens ein kostengünstiges (ca. 1000 Euro) und einfach ausführbares Messverfahren mit geringem apparativem Aufwand entwickelt. Im Rahmen einer morphometrischen Analyse der erhobenen Daten soll mithilfe mathematischer Modelle eine möglichst genaue Abschätzung des Tumolvolumens für jede vermessene Tumorschnittfläche erfolgen. Nach Ermittlung des posttherapeutischen Krankheitsverlaufs der Patientinnen aus dem Datenpool der Nachsorgeambulanz der Klinik ist es die Absicht des Untersuchers,

unterstützt durch ausgewählte statistische Verfahren einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen Tumorzellen und Überleben der Patientinnen zu zeigen. Begleitet wird diese Arbeit von der allgemeinen Idee, durch verlässliche Prognose tendenziell das Ausmaß therapeutischer Maßnahmen (Radikalität) bei gleichbleibender Lebenserwartung der Patientinnen zu verringern, um die Rate an schwerwiegenden behandlungsassoziierten Nebenwirkungen zu verkleinern.

2 Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden Daten aus dem Patientenkollektiv der Grazer Frauenklinik vom Jahr 1994 bis 2007 bearbeitet. Es handelte sich dabei zum einen um archivierte histologische Großflächenschnitte der Cervix uteri mit enthaltenem Zervixkarzinom, welche nach erfolgter Tumoroperation hergestellt wurden. Eine gute Darstellung mit sicherer Tumorbegrenzung war dabei die Voraussetzung für eine genaue und sichere Vermessung der Schnitte. 30 Schnitte wurden für das Landeskrankenhaus Salzburg gefertigt und zur Vergrößerung der Fallzahl im Sinne verbesserter statistischer Signifikanz mitbewertet. Zum anderen wurden Daten zur Person der Patientinnen und archivierte Verlaufsprotokolle ausgehoben, um den Verlauf der Erkrankung nach operativer und adjuvanter Therapie zu beobachten. In Summe wurden so die Daten von 73 Frauen im Alter von 25 – 73 Jahren ermittelt und einer statistischen Auswertung unterzogen.

2.2 Methoden

2.2.1 OP-Präparate als Vermessungsgrundlage

Grundlage für die Gewinnung von histologischen Schnitten bildeten die Operationspräparate von Tumorpatienten. Diese gingen im vorliegenden Fall von Zervixkarzinomen am häufigsten aus Wertheim-Meigs-Operationen hervor. Das bedeutet, derartige Präparate enthielten en bloc die Cervix uteri mit Scheidenmanschette und die Parametrien beidseits. In einzelnen Fällen wurde bei den betroffenen Frauen bereits in der Vorgeschichte eine Konisation der Zervix durchgeführt, welche auch das Aussehen der OP-Präparate veränderte und das im Schnitt enthaltene Zervixvolumen verminderte. Je nach Ausdehnung und Größe wurde der vom Karzinom befallene Teil der Zervix mit seinem Halteapparat entfernt.

2.2.2 Histologische Aufarbeitung der OP-Präparate

Für die Erstellung der histologischen Schnitte galten die Arbeitsanweisungen der Gynäkologischen Universitätsklinik Graz für Großflächenschnittpräparate:

Die gewonnenen Nativpräparate wurden makroskopisch durch einen Pathologen beschrieben und zugeschnitten. Um die natürlichen Größenverhältnisse des Gewebes zu

erhalten, wurde das Präparat an den Parametrien auf einer Korkplatte aufgespannt und die Scheidenmanschette mit einem Gazestreifen ausgestopft. Mit 4% Formalin wurde das Gewebe für 24 Stunden lang fixiert. Es folgte der Zuschnitt des OP-Präparates, wobei der Corpus uteri abgetrennt und die Cervix uteri mit Scheidenmanschette und Parametrien frontal halbiert wurde. Die rechte Seite des Präparates wurde zur besseren Orientierung mit Tusche markiert. Anschließend wurde das Präparat in 10% gepufferten Formaldehyd für mindestens 24 bis 48 Stunden nachfixiert.

Für die im Anschluss erfolgende Paraffin-Einbettung war eine vorherige Entwässerung des Präparates notwendig. Dies geschah durch eine aufsteigende Alkoholreihe in der Reihenfolge 70% - 96% - 96% - 100% Alkohol für jeweils 24 Stunden. Zur Härtung des Gewebes wurde es - in Abhängigkeit von der Größe des Präparates - weiters für 8 bis 24 Stunden in Aceton eingelegt. Mit der Durchtränkung durch heißes Paraffin mit einer Temperatur von 56 – 58°C über 24 Stunden und dem Ausgießen in Paraffin mit derselben Temperatur, wobei die Tumorschnittfläche plan aufliegen musste, erhielt man nach gründlicher Abkühlung auf Raumtemperatur über eine dafür vorgesehene Kälteplatte durch die Aushärtung des Paraffins den benötigten Gewebeblock (Tetranderblock). Um diesen Block möglichst dünn schneiden zu können, wurde das Präparat auf einen Metallstempel aufgeblickt, mit dessen Hilfe die korrekte Positionierung auf dem Großflächenschnittmikrotom erfolgen konnte.

Bei der Schnittanfertigung war es von großer Bedeutung, zum einen den Bereich der maximalen Tumorausdehnung zu erfassen und zum anderen die Lymphknoten des Parametrium abzubilden. Als Schichtdicke wurde eine Stärke von 7 – 9 µm und Schnitte mit einem Schnittebenenabstand von etwa 300 – 400 µm gewählt. Die angefertigten Schnitte wurden sogleich in ein 42°C warmes Wasserbad gelegt und geglättet auf einen Objektträger gezogen. Zur Trocknung gelangten die Objektträger, nachdem sie bereits für den Färbeprozess in spezielle Objektträger-Färbegestelle eingereiht wurden für 30 Minuten in einen auf 70°C geheizten Heißluftschrank. Abschließend erfolgte die Färbung der Gewebepreparate mit einer Hämatoxylin – Eosin – Färbung, für die zu allererst eine Entparaffinierung des histologischen Schnittes notwendig war. Im Rahmen der sogenannten hinteren Reihe, einer absteigenden Alkoholreihe mit 96% bis 50% Alkohol, wurde der histologische Schnitt zur Gewebefärbung entparaffiniert:

Tabelle 12: Arbeitsschritte der Entparaffinierung des Präparates

Reihenfolge der Arbeitsschritte
1. Tissue clear
2. Tissue clear / 96% Alkohol im Verhältnis 1:1
3. 4 x 96% Alkohol
4. 70% Alkohol
5. 2 x 50% Alkohol
6. 2 x Aqua dest

Durch die so genannte vordere Reihe erhielt der Schnitt schließlich seine typische Färbung und auch Konservierung. Die Farbstoffe Hämatoxylin und Eosin wurden dabei nacheinander im Sinne einer Sukzedanfärbung angeboten, was eine bessere Differenzierung der unterschiedlich gefärbten Anteile ermöglichte. Die Reihenfolge der dafür notwendigen Schritte ist im Folgenden aufgeführt:

Tabelle 13: Arbeitsschritte zur Färbung des Präparates

Arbeitsschritt	Dauer
1. Hämatoxylin GILL III	30 Sekunden
2. Fließendes heißes Wasser	10 Minuten
3. 70% Alkohol	10 x tauchen
4. 96% Alkohol	10 x tauchen
5. Eosin – Phloxin	4 Sekunden
6. 4 x 96% Alkohol	10 x tauchen
7. 2 x 100% Alkohol	10 x tauchen

Es folgte die Trocknung des Schnittes und die Eindeckung mit Mountex, einem Eindeckmittel zur Konservierung des Gewebes, woraufhin eine weitere Trocknung über etwa eine halbe Stunde in einem dafür vorgesehenen Digestorium nötig wurde.

Durch die basischen Eigenschaften des Färbemittels Hämatoxylin reichert sich dieses im gefärbten Gewebe vor allem in Regionen an, in denen Säuren überwiegen, also in Bereichen mit hoher Kerndichte, welche Nukleinsäuren in großen Mengen beinhalten und als basophil bezeichnet werden. Als ein solcher Bereich mit hoher Kerndichte lässt sich auch das Zervixkarzinom identifizieren. Das Tumorgewebe zeigt aufgrund einer pathologisch gesteigerten Proliferationsrate in charakteristischer Weise eine Häufung von atypischen Epithelzellen resp. Zellkernen pro Flächeneinheit, was sich makroskopisch als dunkelblauer Bezirk darstellt. Das Zytoplasma der übrigen Zellen des Zervixschnittes, also gesunden Myo-, Peri- und Parametriums verhält sich überwiegend acidophil, es zieht also

aufgrund seiner Eigenschaften vorwiegend den sauren Farbstoff Eosin an und färbt sich daher rötlich.

2.2.3 Auswertung der histologischen Präparate

Die Vermessung der Großflächenschnitte musste auf händischem Weg erfolgen. Im Sinne der Reproduzierbarkeit der Messungen und einer besseren Kontrolle der getätigten Arbeiten durch Zweit- oder Drittpersonen wurde dieser Teil der Untersuchung computergestützt digitalisiert durchgeführt. Ein optisches Einlesen (Scannen) der gewonnenen Zervixschnitte war dafür notwendig, und wurde durch Verwendung eines konventionellen Flachbettscanners (Hewlett Packard PSC 750 : Optische Auflösung: 600 x 1200 dpi; Interpolierte Auflösung: 9600 x 9600 dpi; Grauskalentiefe: 8 bit; Farbtiefe: 24 bit) bewerkstelligt. Um auf der einen Seite eine ausreichende Messgenauigkeit zu gewährleisten und auf der anderen Seite den Bedarf an Speicherplatz möglichst gering zu halten, wurde eine Scan-Auflösung von 300 dpi (dots per inch) für ausreichend erachtet. Alle histologischen Schnitte wurden somit einheitlich mit derselben Auflösung und derselben Orientierung im Scanner eingelesen und als Rohbilder mit laufender Histologie-Nummer gespeichert. Bei Vorliegen mehrerer serieller Schnitte von Zervix und Tumor von ein und demselben Präparat, wurde aufgrund der Kriterien Größe der Zervix und des Tumors, Form und Färbung des gesamten Schnittes, sowie Abgrenzbarkeit des Tumors vom umgebenden Gewebe der repräsentativste Schnitt der ganzen Serie zur Vermessung, beziehungsweise zum Einlesen ausgewählt. Zervixschnitte mit sowohl makroskopisch, als auch mikroskopisch nicht definierbaren Tumorgrenzen mussten aus der Messung ausgeschlossen werden. In ausgewählten Fällen wurden mithilfe einer Farbmarkierung auf den vorliegenden histologischen Schnitten durch einen gynäkologisch spezialisierten Pathologen die Zervix- und Tumorgrenzen definiert.



Abbildung 3: Eingelesenes Rohbild mit Stiftmarkierung der Zervix und des Karzinoms (Mitte) durch den Pathologen

Die Vermessung der eingelesenen Großflächenschnitte erfolgte an einem Macintosh Computer über die Verwendung des Open source - Programmes ImageJ (56), ein Bildverarbeitungsprogramm, welches von den NIH (National Institutes of Health, USA) aus seinem Macintosh-Vorläufer „NIH Image“ entwickelt wurde.

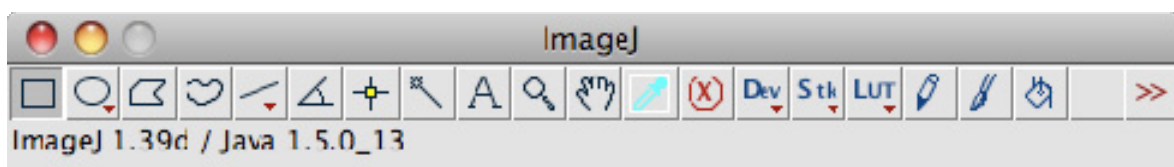


Abbildung 4: Benutzeroberfläche des Bildverarbeitungsprogrammes ImageJ (für Macintosh-Computer)

Da es sich um ein Java-basiertes Programm handelt, kann es plattformunabhängig auf jedem System mit Java verwendet werden. ImageJ ist durch seine Architektur besonders für die Verarbeitung von wissenschaftlichen, speziell medizinischen Bilddaten geeignet. Eine wesentliche Stärke des Programms ist seine enorme Erweiterbarkeit. Fertige PlugIns können bedarfsabhängig aus frei verfügbaren Sammlungen geladen und in das Programm integriert werden. Die Software bietet auch die Möglichkeit in der programmeigenen Makrosprache Befehlssequenzen zu erstellen , bzw. mit Java ist es möglich spezifische PlugIns zu erstellen.

Im Sinne der höheren Genauigkeit und größeren Benutzerfreundlichkeit erfolgte die Bildverarbeitung der Zervixschnitte manuell mit Hilfe eines Grafik-Tablets (Wacom® Graphic Tablet, Modell: CTE-640). Die Begrenzungen der gesuchten Flächen wurden dabei mit einem speziellen Stift, unter visueller Kontrolle über den Computerbildschirm, auf dem Sensorfeld des Grafik-Tablets eingezeichnet.

Zur Bearbeitung wurden die Bilder in ImageJ geöffnet und bedarfsgerecht zur leichteren Beurteilung und Unterscheidung einer Vergrößerung von 50 – 100% unterzogen. Über die Funktion „Freehand selections“ und eine ausgewählte Farbe, wurden die gesuchten Flächen innerhalb des eingelesenen Bildes mit einer geschlossenen Linie eingezeichnet. Durch den Befehl „Measure“ aus dem Menü „Analyze“ von ImageJ wurde die Messung der eingezeichneten Fläche vom Programm durchgeführt und die Messwerte in Form einer Excel-Tabelle ausgegeben. Dies waren nach vorheriger Einstellung der Messwertausgabe, die Bildbezeichnung mit fortlaufender Histologie-Nummer, der Feret-Durchmesser des gezeichneten Feldes, und die Größe des gezeichneten Feldes in Anzahl an enthaltenen Bildpunkten. Aus der Bildinformation (Auflösung 300 dpi) errechnet das Programm unabhängig vom aktuellen Vergrößerungsgrad am Bildschirm die Zahl an in den gezeichneten Rahmen eingefassten Bildpunkten (Pixel).

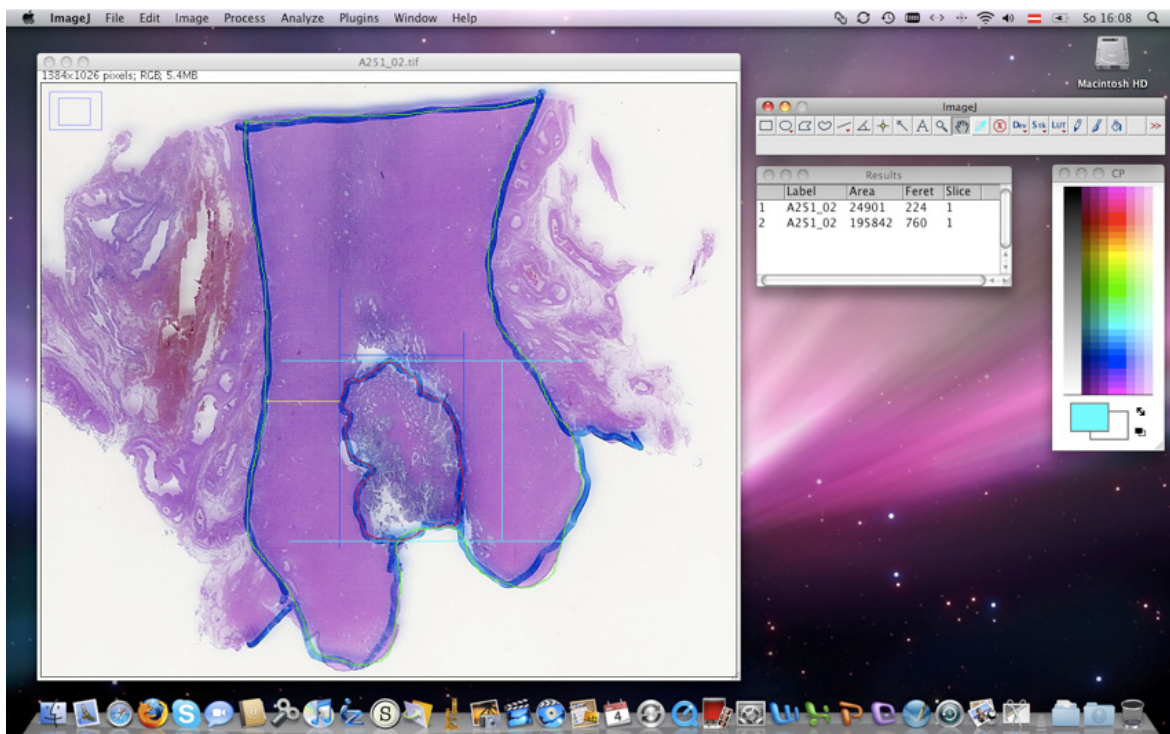


Abbildung 5: ImageJ bei der Vermessung histologischer Schnitte (auf Mac OS X 10.5 Leopard)

Im Anschluss erfolgte die Übertragung der generierten Zahlenwerte (Fläche in Pixel) in die dafür vorgesehene Excel-Tabelle. Das beschriebene Procedere wurde zweimal, ein Rahmen für die Zervix, einer für das Karzinom, durchgeführt. Des Weiteren konnte unter der Verwendung einer geraden Linie in der Funktion „Straight line selections“ der Abstand des Tumors zum parazervikalen Bindegewebe vermessen werden. Als Bezeichnung dafür wurde der Begriff „Tumorfremie Randzone“ gewählt.

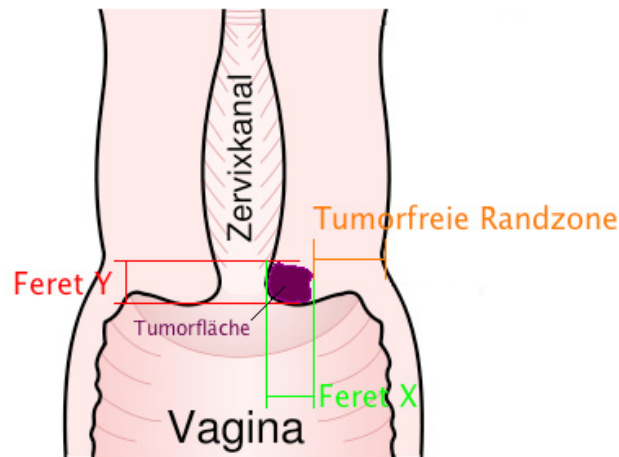


Abbildung 6: Illustration der am Karzinom getätigten Messungen

Zusätzlich wurde eine visuelle Beurteilung der groben Form des Tumors getätigt. Im Sinne einer Standardisierung standen dafür 4 Bezeichnungen zur Auswahl:

- Kreis (Numerische Exzentrizität $\epsilon = 0$)
- Ellipse ($0 < \text{Numerische Exzentrizität } \epsilon < 1$)
- Rechteck
- Irreguläre Form

$$\varepsilon = \frac{\sqrt{a^2 \pm b^2}}{a} = \sqrt{1 \pm \left(\frac{b}{a}\right)^2}$$

Abbildung 7: Formel der numerischen Exzentrizität ε als Maß für die Abweichung eines Kegelschnittes von der Kreisform. (a=große Halbachse, b=kleine Halbachse der Ellipse)

Für die Formanalyse erwies sich ein weiterer abgenommener Messwert in Form des Feret-Durchmessers in zwei rechtwinkelig zueinander stehenden Achsen (Feret X und Feret Y) als sehr hilfreich. Dabei wurde nach Anlegen einer Tangente am jeweiligen Tumorrund die maximale Tumorausdehnung in X- und Y-Ebene gemessen.

Die gewählte Hard- und Softwarekombination erlaubt eine relativ einfache Durchführung der Messungen mit einem geringen Material- und Kosteneinsatz (Standard-PC, Scanner, und Grafiktableau mit Gesamtkosten unter 1000 €) und soll in dieser Form auch in Zukunft an der Universitätsfrauenklinik verwendet werden.

2.2.4 Zervix und Karzinom – Von der Fläche zum Volumen

Als primäre Ergebnisse der Vermessungsarbeiten an den histologischen Schnitten der Cervices wurden von der angewandten Software Längen- beziehungsweise Flächeninhalte in Form von Pixelwerten ausgegeben. Um eine verbesserte Weiterverarbeitung der erhaltenen Daten und Messwertinterpretation zu erzielen, wurde eine Umrechnung in das metrische Einheitensystem als sinnvoll erachtet. Dabei wurde wie in folgenden Einzelschritten aufgelistet, vorgegangen:

Umrechnung auf metrisches Einheitensystem
Bildauflösung nach Scannvorgang: 300 x 300 dpi (=Bildpunkte pro Zoll)
Wie viele Bildpunkte befinden sich auf 1 cm ² ?
Inch = Zoll = 2,54 cm = 25,4 mm
300 Punkte pro Zoll → 300 / 2,54 = 118,11 Punkte pro Zentimeter
118,11 x 118,11 = 13949,972 Punkte pro Quadratzentimeter

Abbildung 8: Umrechnung auf metrisches Maß

Dies bedeutet, dass bei einer Verwendung der Zahl 13949,972 als Divisor, der Pixelwert einer vermessenen Fläche über eine Division in die metrische Einheit Quadratzentimeter umgerechnet werden kann. Für Längenmaße wurde die Zahl 118,11 als Divisor gewählt

um eine Länge in Zentimetern zu erhalten. Über die Verwendung eines vordefinierten Testbildes mit Objekten bekannter Größe (Flächen und Geraden), welches ebenso mit Hilfe des Scanners eingelesen und folgend mit ImageJ bearbeitet wurde, konnte die Validität und Reliabilität des Messverfahrens und der Umrechnung gezeigt werden.

Zur Entwicklung einer möglichst exakten Annäherung an das tatsächliche Volumen der Cervices und Zervixkarzinome musste eine Formel gefunden werden, die es ermöglichte, aus den berechneten Flächen eine genaue Abschätzung des dazugehörigen Volumens zu machen. Eingehende Untersuchungen auf diesem Gebiet waren zu diesem Zeitpunkt bereits durch Vorarbeiten in den 1980er Jahren (3) bekannt, in denen verschiedenste Formeln zur Beschreibung geometrischer Körper analysiert und miteinander verglichen wurden. Im vorliegenden Fall standen Messwerte für jeweils einen repräsentativen histologischen Schnitt aus Serien vieler Schnitte eines Tumors/einer Zervix für eine Volumsberechnung zur Verfügung. Notwendig war eine Volumenformel, für welche alle benötigten Variablen bekannt waren, und die näherungsweise die räumliche Gestalt beschrieb, welche einen Großteil der Karzinome am besten charakterisieren würde. Das geeignete mathematische Modell dafür bildete das Ellipsoid, für dessen Berechnung lediglich der Durchmesser des Objektes, als auch die maximale Fläche (des Tumors am Schnitt) von Nöten war, um das Volumen zu erhalten.

$$V = \frac{8}{3} h A_{\max}$$

Abbildung 9: Volumenformel des Ellipsoids; h entspricht Durchmesser, A_{\max} entspricht größter gemessener Fläche

2.2.5 Behandlungsprotokolle von Tumorpatienten

Um die für die Auswertung bedeutenden Kontextinformationen zu den Patientinnen der analysierten histologischen Schnitte zu erhalten, mussten aus der Nachsorgeambulanz der Universitätsfrauenklinik Graz die archivierten Behandlungsprotokolle der Zervixkarzinompatienten ausgehoben werden. Informationen, die für die weitere Analyse essentiell waren, mussten auf diese Weise gewonnen, und in die Wertetabelle eingefügt werden. Die notwendige Verknüpfung mit den Patientendaten war durch die fortlaufende Histologienummer gegeben, welche sowohl auf den histologischen Schnitten, als auch auf

den Protokollen der Patientinnen vorhanden war. Auf diese Weise wurden patientenspezifische Daten, wie Vor- und Nachname, das Alter (Geburtsdatum) der Patientinnen, Ort der Behandlung (Graz oder Salzburg), Behandlungsjahr, OP-Datum, OP-Typ, Tumorstadium, Lymphknotenstatus etc. gewonnen. Zusätzlich konnte aus den beigefügten datierten Ambulanzaufzeichnungen auf das Follow-up der Patientinnen rückgeschlossen werden, und ob zum Zeitpunkt der aktuellsten ambulanten Kontrolle ein Rezidivtumor oder Tumorfreiheit vorlagen.

2.2.6 Datenerfassung und Statistik

Um die erhobenen Daten in geordneter Weise zu sichern und einer späteren statistischen Analyse zuführen zu können, wurden die Messwerte in eine speziell angefertigte Datei des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft® Excel eingelesen. Zur ausführlichen statistischen Analyse wurden die Messergebnisse der Jahre 1991 – 1996 einer vorangegangenen Studie mit den aktuellen Messergebnissen von 1994 – 2007 in einer mit dem Programm FileMaker Pro 6 (FileMaker Inc.) erstellten Datenbank zusammengeführt, und die sortierten Datensätze mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Il) einer eingehenden statistischen Analyse unterzogen. Um die folgenden Erkenntnisse zu gewinnen, wurden im Anschluss aufgelistete statistische Verfahren ausgewählt:

- **Kreuztabelle**

Durch die Anlage einer Kreuztabelle konnte eine grobe Übersicht über die möglichen Zusammenhänge von Tumoreigenschaften (Stadium, Volumen) visualisiert werden. Kreuztabellen werden zur Darstellung von Zusammenhängen kategoriellen Merkmalen verwendet.

- **Chi-Quadrat-Test**

Mit Hilfe von Chi-Quadrat-Tests wird die Unabhängigkeit von zwei oder mehreren kategoriellen Merkmalen geprüft, etwa Tumorstadien und (klassierter) Tumorgröße.

- **Kaplan-Meier-Überlebensanalyse**

Den größten Anteil der statistischen Analyse bildete die Untersuchung des Überlebens der behandelten Patientinnen, für welche aufgrund der unterschiedlichen Beobachtungszeiträume die Kaplan-Meier Methode als ideal erachtet wurde. Mit ihrer Hilfe gelang es, eine Abschätzung des Überlebens

inklusive Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit, abhängig vom diagnostizierten Tumorstadium, vom errechneten Tumolvolumen und von der Kombination aus Stadium und Volumen durchzuführen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit und besseren Verwertung wurden die Fälle abhängig vom Tumolvolumen in drei Gruppen zusammengefasst, in welchen Zervixkarzinome der Größen bis 5 cm³, 5,001 – 15 cm³ und über 15 cm³ entsprechend zugeordnet wurden. Die gewonnenen Resultate der Analyse wurden auch grafisch in Form von Überlebensfunktionen dargestellt.

- **Log Rank (Mantel-Cox) Test**

Über diesen Test sollte durch Überprüfung der Nullhypothese (entspricht der Behauptung, die Überlebensfunktionen der getesteten Gruppen wären gleich) ein signifikanter Unterschied im Überleben der einzelnen Gruppen, wie ursprünglich angenommen, bestätigt werden.

Als Signifikanzgrenze wurde generell $\alpha=0,05$ verwendet; p-Werte $<0,05$ wurden als signifikant ausgewiesen.

2.2.7 Textverarbeitung und Layout

Zur Eingabe und Bearbeitung des vorliegenden Textes wurde das Textverarbeitungsprogramm Microsoft® Word 2004 für Mac in der Version 11.3 verwendet. Die Verwaltung des Literaturverzeichnisses erfolgte dabei durch eine für das Betriebssystem Mac OS X geeignete Software namens Sente 4.2 (Third Street Software, Inc.). Tabellen und Diagramme wurden ebenso mit Hilfe von Microsoft® Excel 2004 für Mac (Version 11.3.7) erstellt und in den Word-Text eingefügt.

3 Ergebnisse

In dieser vorliegenden Folgeuntersuchung der bereits vorliegenden Studie von 1988 (Haas) wurden in einem beobachteten Zeitraum von 13 Jahren (von 1994 bis 2007) bei 73 Patientinnen mit diagnostiziertem Zervixkarzinom und anschließender radikaler Hysterektomie, eine histologische Untersuchung der Cervix uteri im Sinne eines Großflächenschnittes des OP-Präparates und anschließend eine computergestützte Größenvermessung von Tumor und Zervix durchgeführt. Der Altersdurchschnitt der betroffenen Patientinnen betrug bei dieser Untersuchung 45,1 Jahre bei einer Standardabweichung von 12,03 Jahren. Die Altersspanne reichte dabei von 25 bis 73 Jahre.

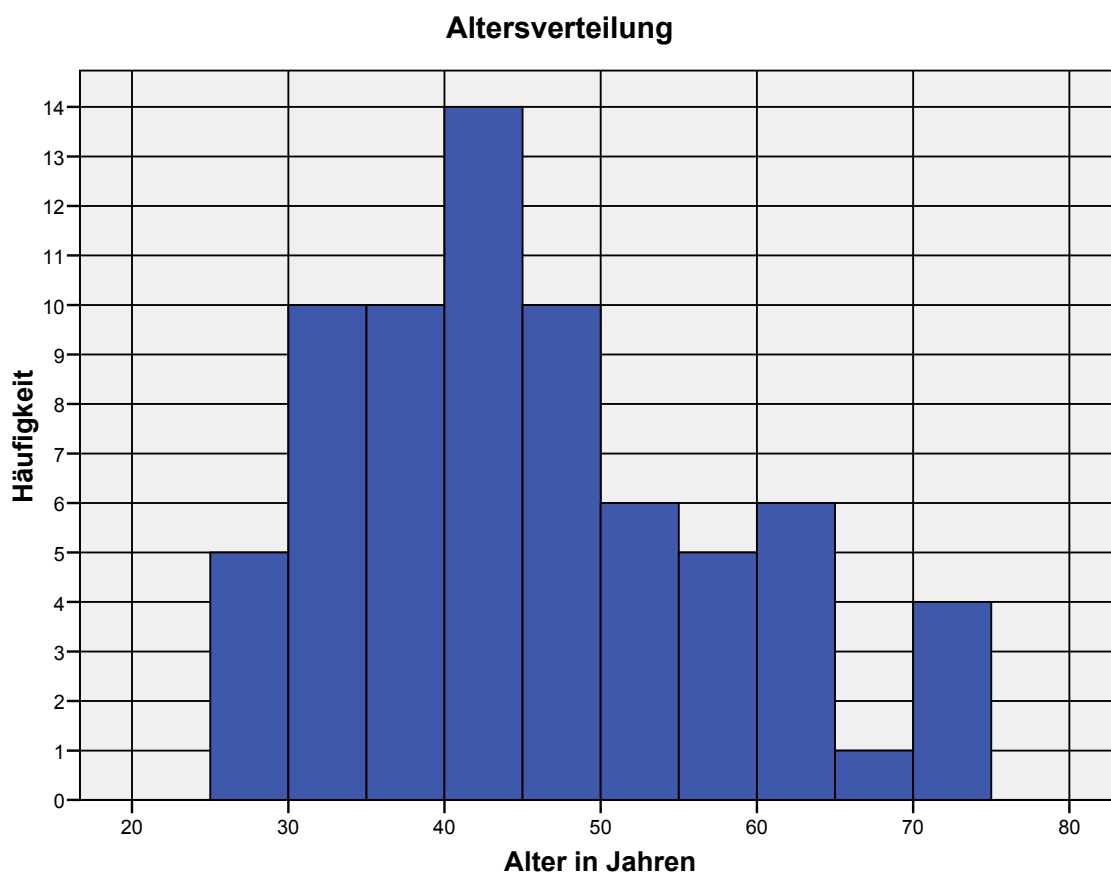


Abbildung 10: Altersverteilung des untersuchten Patientenkollektivs

3.1 Resultate des computergestützten Messverfahrens

Im Sinne einer Aktualisierung des bereits bekannten Daten der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Graz wurden archivierte histologische Schnitte der vergangenen Jahre sowohl des Grazer Patientenkollektivs als auch histologische Schnitte aus Salzburg, welche noch keiner Vermessung und statistischen Auswertung zugeführt

worden waren, in das aktuelle Messvorhaben einbezogen. Es handelte sich dabei um 73 Serien von Großflächenschnitten der Cervix uteri aus einem Zeitraum von 1994 bis 2007.

Tabelle 14: Datierung und Anzahl analysierter histologischer Schnitte

Jahr	Anzahl von Serien
1994	1
1997	12
2002	10
2003	9
2004	17
2005	6
2006	13
2007	5

Aus der Vermessung des repräsentativsten Schnittes jeder Serie ergingen in Abhängigkeit der eingelesenen Auflösung der Schnittbilder von 300 dpi die Flächeninhalte der eingefassten Zervixanteile und des Tumorschnittes als errechnete Pixelwerte in die Wertetabelle ein. Die dabei ermittelte Zervixfläche in Quadratmillimetern reichte von 377,9 mm² bis 2429,4 mm² (Mittelwert: 1135,7 mm²; Median: 1011,7 mm²) während die Tumorfläche in einem Bereich von 21,6 mm² bis zu 2010,1 mm² (Mittelwert: 517,8 mm²; Median: 385,7 mm²) rangierte. Die beiden Maximalwerte stammten von ein und demselben Schnitt, sodass die größte Cervix uteri der Untersuchungsgruppe auch das größte Karzinom enthielt.

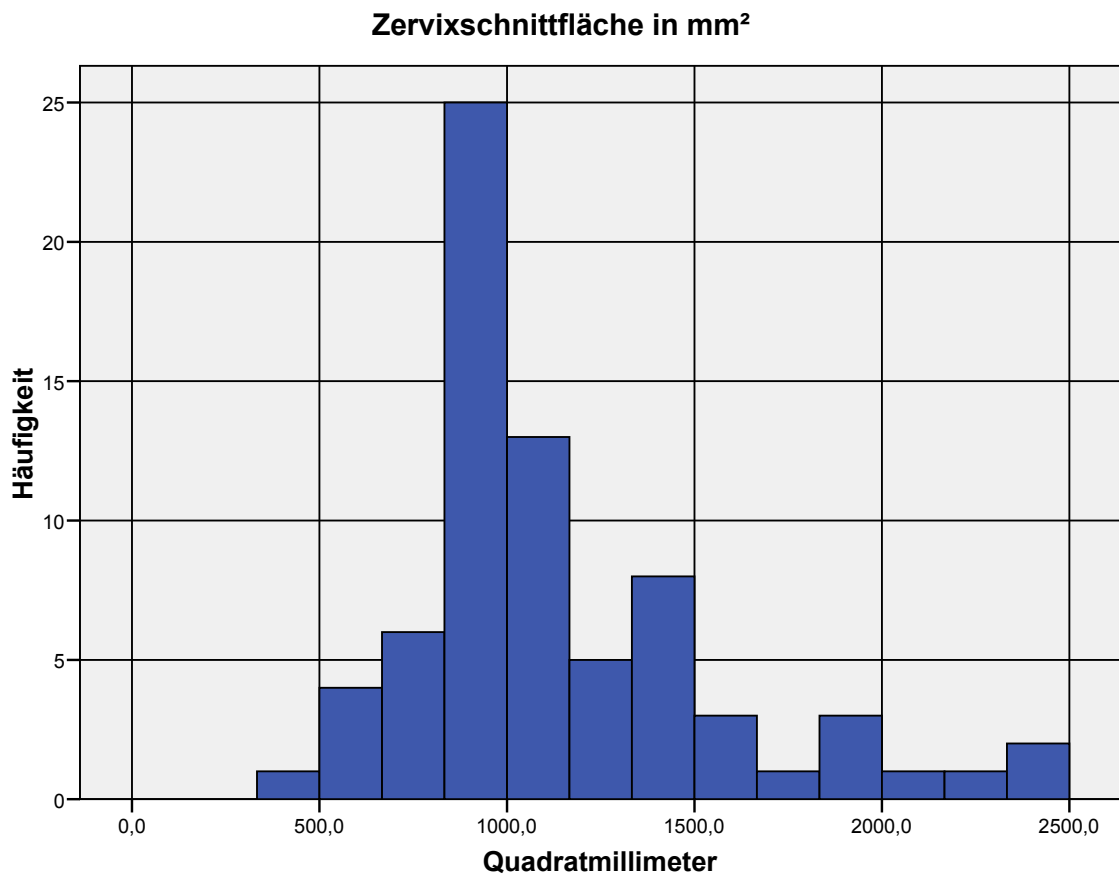


Abbildung 11: Verteilung der Zervixschnittflächengrößen am untersuchten Patientenkollektiv

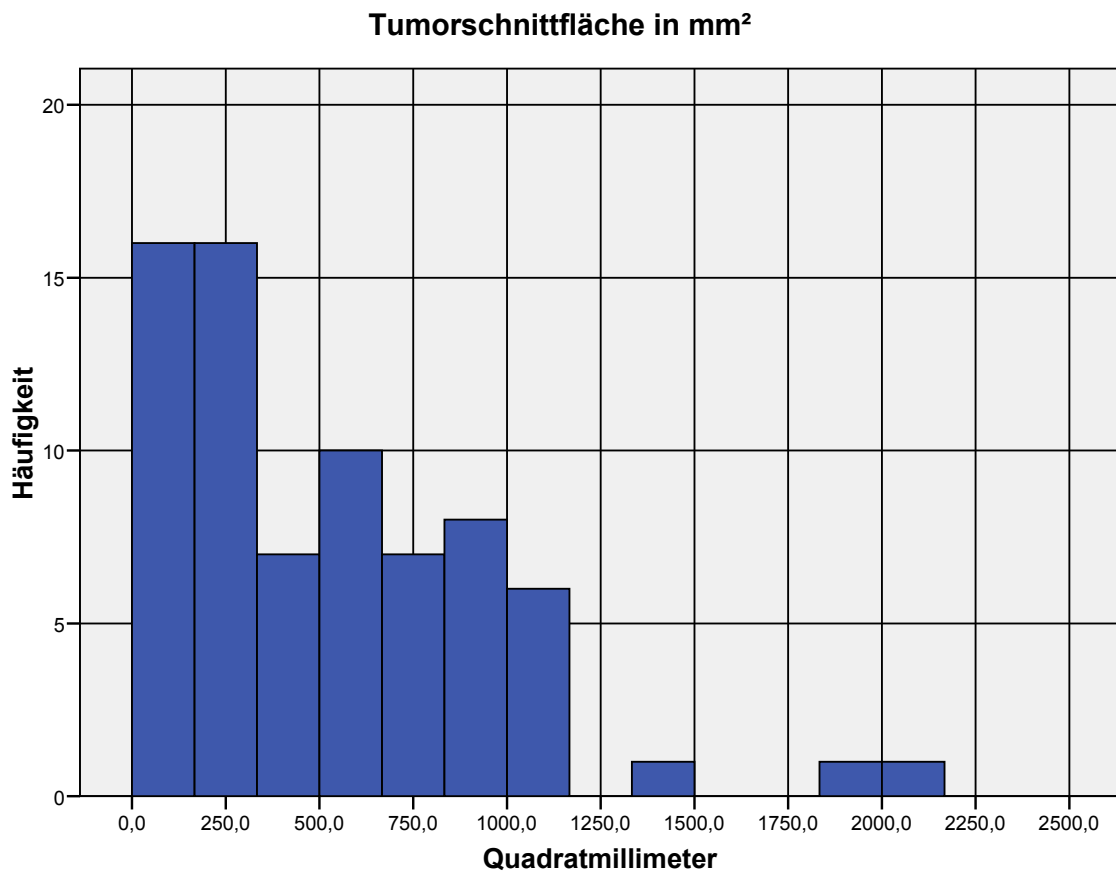


Abbildung 12: Verteilung der Tumorschnittflächengrößen am untersuchten Patientenkollektiv

Als weiterer Messwert konnte der kürzeste Abstand der äußeren Tumorgrenze zum Zervixrand (= Tumorfreie Randzone) als möglicher Prädiktor für eine Invasion des Tumors und folglich Verschlechterung der Prognose ermittelt werden. Die Werte reichten dabei vom größten Abstand zwischen Tumordinvasionsfront und Zervixrand von 8,9 mm, bis 0 mm bei Erreichen beziehungsweise Überschreiten der Zervixgrenze durch wachsendes Tumorgewebe und Infiltration des parazervikalen Bindegewebes (Mittelwert: 1,7 mm; Median: 0,9 mm).

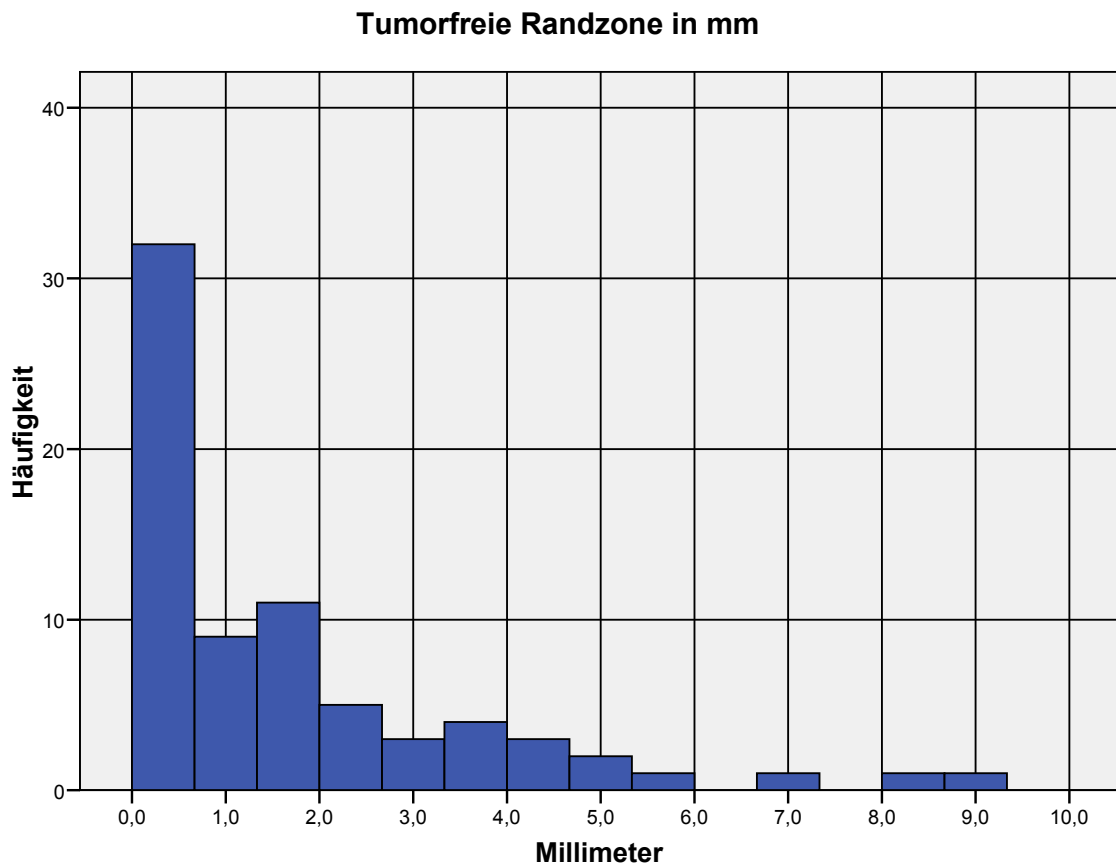


Abbildung 13: Verteilung der Tumorfremie Randzone am untersuchten Patientenkollektiv

Des Weiteren erfolgte eine visuelle Beurteilung der geometrischen Gestalt des Tumors mit anschließender Zuordnung zu vier bereits definierten Gruppen, die folgendes Ergebnis brachte:

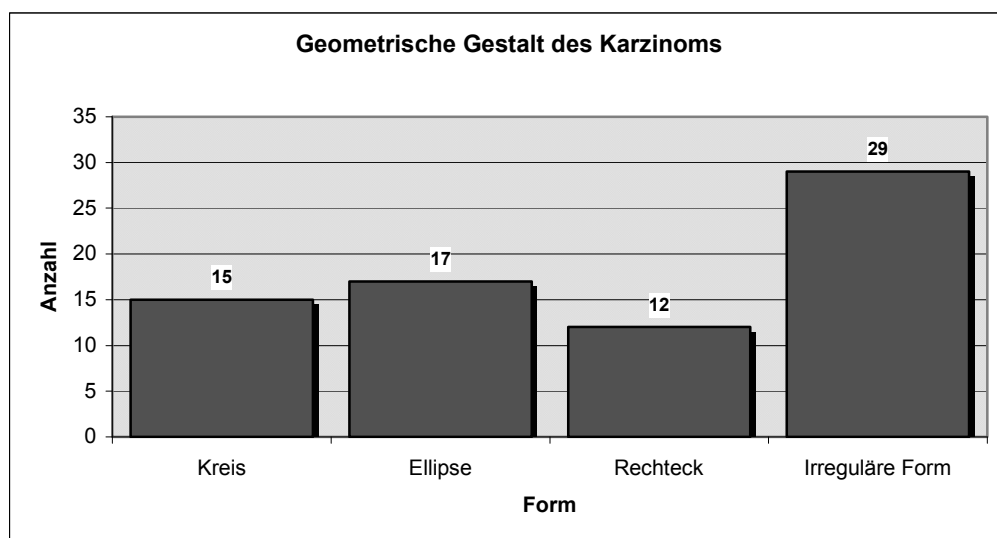


Abbildung 14: Verteilung der geometrischen Form analysierter Zervixkarzinome

Obiges Diagramm zeigt eine deutliche Dominanz der irregulären Wachstumsform von Zervixkarzinomen bei 29 Patientinnen, für welche sich keine definitive Zuordnung zu einem zweidimensionalen geometrischen Modell durchführen ließ. Der Rest der Untersuchungsgruppe ließ sich in etwa gleichen Mengen auf die übrigen 3 Gruppen verteilen. 17 Patientinnen zeigten einen Tumor mit ellipsoider Schnittfläche, in die Tumorschnittfläche von 15 Patienten ließ sich ein Kreis mit konstantem Radius legen (kreisförmiger Tumor) und lediglich bei 12 Patientinnen zeigte der Tumor eine annähernd rechteckige Form.

Der kleinste horizontale Feret-Durchmesser (Feret X) betrug 6,4 mm, der größte 59,3 mm (Mittelwert: 27,0 mm; Median: 27,0 mm). Der vertikale Feret-Durchmesser (Feret Y) hatte eine Spanne von 5,2 mm bis 57,8 mm (Mittelwert: 27,6 mm; Median: 27,7 mm).

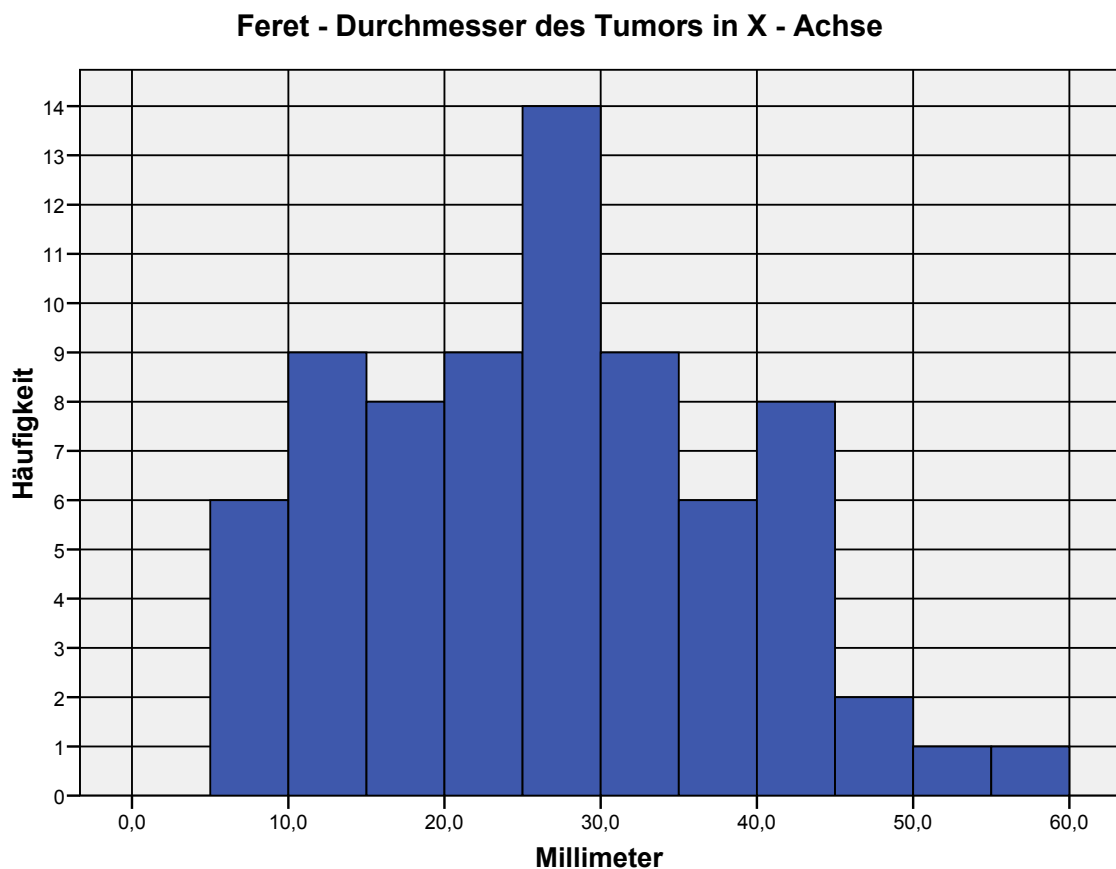


Abbildung 15: Horizontaler Feret-Durchmesser der untersuchten Tumoren

Feret - Durchmesser des Tumors in Y - Achse

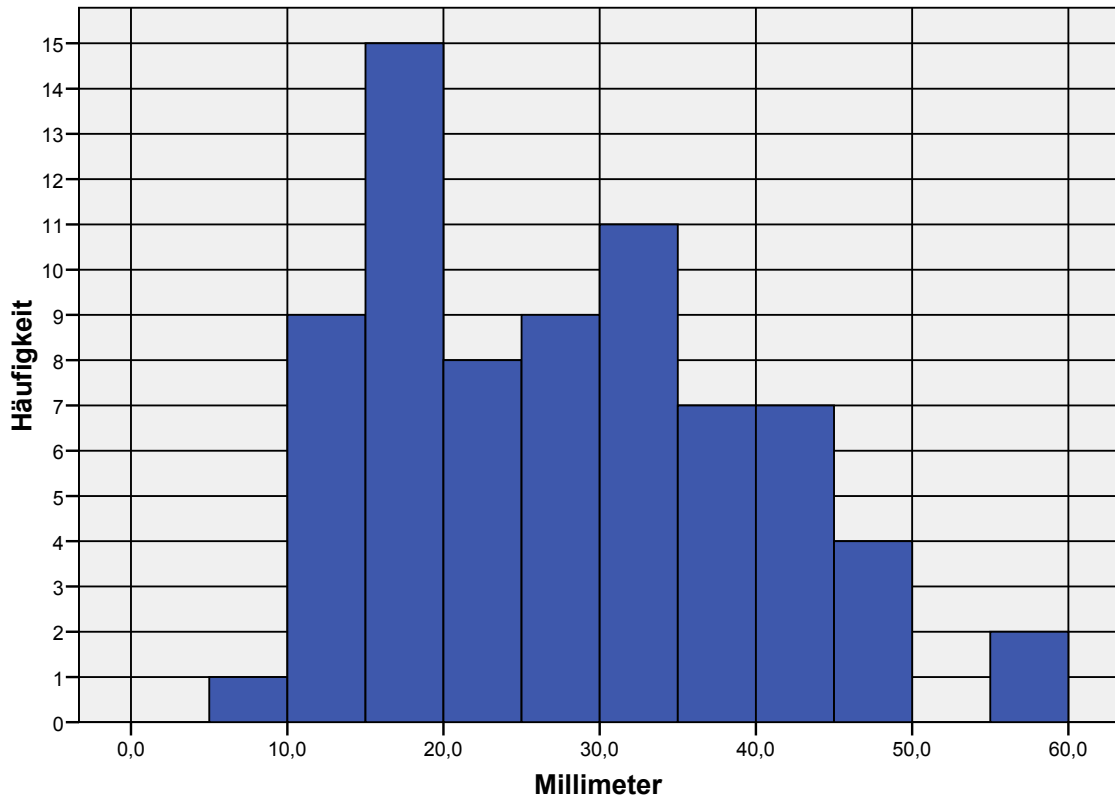


Abbildung 16: Vertikaler Feret-Durchmesser der untersuchten Tumoren

Die mit Hilfe der Volumenformel errechneten Volumina reichten für die Karzinome von $93,0 \text{ mm}^3$ bis $77483,0 \text{ mm}^3$ (Mittelwert: $12141,3 \text{ mm}^3$; Median: 8504 mm^3). Der im Anschluss ermittelte Tumor-Zervix-Quotient, als Maß der beiden Größen zueinander, reichte von 0,02 bis 1,05.

3.2 Informationsgewinn durch Behandlungsprotokolle und Nachbeobachtung

Insgesamt mussten im Rahmen der aktuellen Arbeit 73 Patientenakten mit dem Ziel einer genauen Verlaufsbeobachtung ausgehoben werden. Von den benötigten 73 Akten mit Angaben zur Person des Patienten, Daten des stationären Aufenthalts und der Operation bzw. der weiteren Therapie und dokumentierten Verlaufskontrollen in der Gynäkologischen Ambulanz konnten 18 mit vollständigem Inhalt angetroffen, und im Sinne einer kombinierten Datenerfassung die benötigten Informationen in die dafür erstellte Datenbank transferiert werden. Für 55 Fälle konnten ausschließlich die Messergebnisse der vorliegenden Arbeit zur Auswertung herangezogen werden, 30

Patienten davon stammten aus dem Salzburger Kollektiv, für welche bis zum Zeitpunkt der Auswertung keine spezifischen Patienteninformationen in Form von Behandlungs- bzw. Verlaufsprotokollen vorlagen. Aus den Behandlungsprotokollen (Wertheim-Protokollen) konnte die klinische Einschätzung des Tumors in Bezug auf Größe und Lage bzw. histologische Klassifikation und Lymphknotenstatus der Patientin gewonnen werden. Wurden die Nachsorgekontrollen der behandelten Patientinnen wahrgenommen, bedeutete dies einen Eintrag in der Ambulanzkarte und ermöglichte durch die Information der Kontrolluntersuchungen und derer Ergebnisse das Follow-up der Patientinnen bzw. Rezidivaufreten der Tumorerkrankung im Sinne von Metastasen festzustellen.

3.3 Zusammenführung der erhobenen Daten und statistische Auswertung

Um eine brauchbare Zahl an Fällen für die Auswertung der Daten zu erhalten, wurden zu den 73 Fällen, welche im Rahmen dieser Arbeit vermessen wurden, weitere 74 Patienten einer früheren Messserie hinzugefügt. Basierend auf den gesammelten Informationen durch das optische Messverfahren und den Daten aus den Wertheim-Protokollen bzw. Patientenakten, konnte die statistische Auswertung nun mit einer Gesamtpatientenzahl von 147 Frauen durchgeführt werden. Einzelne Tests mussten aber bei Fehlen der essentiellen Daten mit einer geringeren Fallzahl generiert werden. Die beiden Durchmesser Feret X und Feret Y, beziehungsweise die Tumorform und Tumorfremde Randzone standen bei der alten Serie nicht zur Verfügung resp. wurden damals nicht erhoben.

Ein statistischer Vergleich der Untersuchungsgruppe „Neu“ (N = 73) mit der Untersuchungsgruppe „Alt“ (N = 74) wurde durchgeführt, um die Äquivalenz der Eigenschaften beider Gruppen zu überprüfen. Dies geschah im Rahmen einer ANOVA-Tabelle, in welcher die Parameter Zervixfläche, Karzinomfläche, Tumor-Zervix-Quotient und Tumolvolumen der beiden Gruppen einander gegenübergestellt wurden. Dabei ergab sich für den Messwert „Zervixfläche“ erwartungsgemäß kein Unterschied ($p = 0,127$), da anzunehmen war, dass sich bei adäquaten Messverfahren die Größe der Zervix bei Vergleich der beiden Gruppen nicht verändert haben konnte. Auch für das Tumolvolumen konnte knapp kein signifikanter Unterschied ($p = 0,051$) gefunden werden, während bei Betrachtung der Karzinomfläche alleine bzw. des Tumor-Zervix-Quotienten sehrwohl ein signifikanter Unterschied bestand ($p = 0,006$ bzw. $p = 0,008$). Die Ursache dafür zeigte sich bei der Auflistung der Tumorstadien zum Zeitpunkt der Diagnose mit der Erkenntnis,

dass in der Vergangenheit Zervixkarzinome oft erst in fortgeschritteneren Stadien entdeckt wurden, als dies zum jetzigen Zeitpunkt der Fall ist. Mit einer mittleren Karzinomfläche der Untersuchungsgruppe „Alt“ von 738,3 mm² (Median: 612,0 mm²) lag die Tumorgöße auch tatsächlich über jener der aktuellen Reihe.

In Bezug auf das klinische Stadium des Tumors bei Operation (FIGO-Klassifikation) wurde eine Unterteilung des Kollektivs in drei Gruppen vorgenommen (IB, IIA, IIB) für welche sich die dargestellte Verteilung für die beiden Untersuchungsgruppen zeigte:

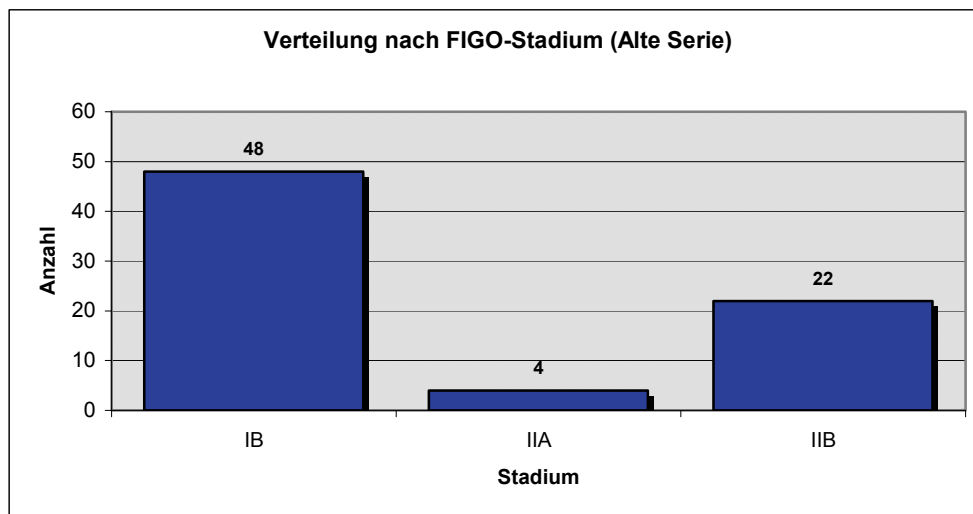


Abbildung 17: Stadiumabhängige Verteilung des analysierten Patientenkollektivs der Untersuchungsgruppe „Alt“

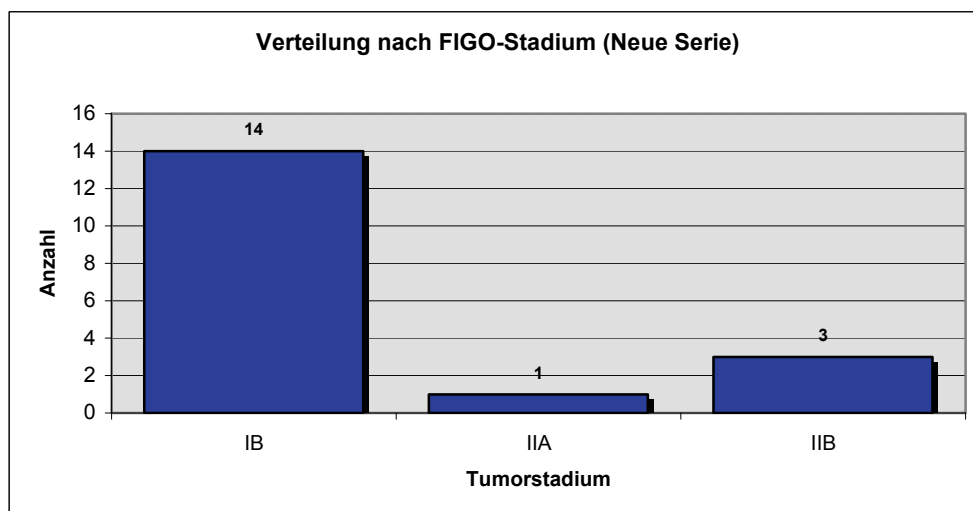


Abbildung 18: Stadiumabhängige Verteilung des analysierten Patientenkollektivs der Untersuchungsgruppe „Neu“

Insgesamt stellte also die Gruppe der Tumoren mit FIGO-Stadium „IB“ mit einer Anzahl von 62 Patienten das größte Kontingent der untersuchten Gruppe mit einem Tumolvolumen von 50 mm³ bis 51300 mm³, gefolgt von 25 Fällen mit Stadium „IIB“ mit einem Tumolvolumen von 2199 mm³ bis 52500 mm³ und einer geringen Anzahl von 5 Tumoren des Stadiums „IIA“ mit einer Volumsspanne von 2900 mm³ bis 30700 mm³.

Tabelle 15: Tumorummolumina in Abhängigkeit von untersuchter Gruppe und Stadium

Stadium	Untersuchungsgruppe	Volumen		
		Mittelwert	Min.	Max.
IB	ALT	11295,6	50	51300
	NEU	5574,9	393	27821
IIA	ALT	12100,0	2900	30700
	NEU	17432,0	17432	17432
IIB	ALT	31230,0	8200	52500
	NEU	7944,3	2199	19006

Mit einer weiteren ANOVA-Tabelle konnte nun unter Rücksichtnahme auf die drei nach FIGO-Stadium sortierten Gruppen untersucht werden, ob und in welchen beobachteten Parametern sich die Gruppen IB,IIA und IIB unterscheiden würden. Ein deutlich signifikanter Unterschied konnte demnach für die Zervixfläche (größere Tumoren treiben die Zervix weiter auf), die Karzinomfläche, das Karzinomvolumen und den Tumor-Zervix-Quotienten ermittelt werden (jeweils $p = 0,000$).

Mit Hilfe einer Kreuztabelle konnten die beiden beschriebenen Parameter Volumen und klinisches Stadium für insgesamt 87 Fälle einander gegenübergestellt werden. Durch die tabellarische Auflistung konnte bereits ein Zusammenhang in Betracht gezogen werden, der sich durch Anwendung von Chi-Quadrat-Tests (Asymptotische Signifikanz $p = 0,000$) bestätigen ließ: Karzinome niedrigeren Stadiums (IB) haben eher ein kleineres Volumen, machen also einen Großteil der ersten bzw. zweiten Gruppe mit einem Volumen von 5 bis 15 cm³ aus. Umgekehrt sind Tumore fortgeschrittenen Stadiums (IIB) größer und bilden den größten Anteil der Gruppen großen Tumorummolumens.

Tabelle 16: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Tumorzvolumen

Volumen	Klinisches Stadium			Gesamt
	IB	IIA	IIB	
$\leq 5 \text{ cm}^3$	27 (45,8%)	1 (20,0%)	2 (8,7%)	30 (34,5%)
5,001 – 15 cm^3	21 (35,6%)	2 (40,0%)	5 (21,7%)	28 (32,2%)
$>15 \text{ cm}^3$	11 (18,6%)	2 (40,0%)	16 (69,9%)	29 (33,3%)
Gesamt	59 (100%)	5 (100%)	23 (100%)	87 (100%)

Klinisches Stadium und Tumorzvolumen beeinflussten einander folglich mit statistischer Signifikanz.

Erwartungsgemäß konnte das gleiche Ergebnis in Zusammenschau von Zervixfläche und klinischem Stadium gefunden werden. Die Größe des Tumors beeinflusste durch Auftreibung des umgebenden Gewebes signifikant ($p = 0,009$) die Größe der Zervix, resp. wurden Tumoren fortgeschritteneren Stadiums in größeren Zervices gefunden (Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde das untersuchte Kollektiv in 3 etwa gleich große Gruppen eingeteilt):

Tabelle 17: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Zervixfläche

Zervixfläche in mm^2	Klinisches Stadium			Gesamt
	IB	IIA	IIB	
$\leq 1000,0$	24 (38,7%)	2 (40,0%)	4 (16,0%)	30 (32,6%)
1000,1 – 1500,0	32 (51,6%)	3 (60,0%)	11 (44,0%)	46 (50,0%)
$> 1500,0$	6 (9,7%)	0 (0,0%)	10 (40,0%)	16 (17,4%)
Gesamt	62 (100%)	5 (100%)	25 (100%)	92 (100%)

Auch für den Tumor-Zervix-Quotienten, als Maß für das Größenverhältnis von Tumor- zu Zervixgröße konnte nach Entwurf einer Kreuztabelle ein deutlich statistisch signifikanter Zusammenhang ($p = 0,000$) mit dem klinischen Stadium gefunden werden (Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde das untersuchte Kollektiv in 3 etwa gleich große Gruppen eingeteilt):

Tabelle 18: Kreuztabelle mit klinischem Stadium und Tumor-Zervix-Quotient

Tumor-Zervix-Quotient	Klinisches Stadium			Gesamt
	IB	IIA	IIB	
$\leq 0,33$	26 (41,9%)	1 (20,0%)	2 (8,0%)	29 (31,5%)
0,34 – 0,67	29 (46,8%)	2 (40,0%)	6 (24,0%)	37 (40,2%)
$> 0,67$	7 (11,3%)	2 (40,0%)	17 (68,0%)	26 (28,3%)
Gesamt	62 (100%)	5 (100%)	25 (100%)	92 (100%)

Ein kleiner Tumor-Zervix-Quotient bedeutet demnach relativ betrachtet einen in einer großen Zervix befindlichen kleinen Tumor. In frühen klinischen Stadien nimmt die gesunde Zervix anteilmäßig großen Raum ein, mit wachsender Tumormasse gibt sie jedoch trotz Auftreibung Anteile an den Tumor ab. Der Tumor-Zervix-Quotient steigt daher mit dem Tumorwachstum und dem klinischen Stadium.

Der Parameter „Tumorfremie Randzone“ wurde als möglicher neuer prognostischer Faktor für das Überleben der Patientinnen angenommen, und daher auch der statistischen Überprüfung zugeführt. Ermittelt wurde er im Rahmen der Vermessung der aktuellen Serie an 73 Patientinnen, von denen jedoch bis zum Zeitpunkt dieser Auswertung lediglich in 18 Fällen Daten zu klinischem Stadium und weiterem Verlauf bekannt waren. In der statistischen Auswertung konnte mit einer asymptotischen Signifikanz von $p = 0,513$ kein Zusammenhang zwischen Randzone und Stadium gefunden werden. Genaue Untersuchungen nach Vervollständigung der Datensätze müssen noch folgen, da bei repräsentativer Fallzahl an einen statistisch signifikanten Zusammenhang zu denken ist.

Die Untersuchung der geometrischen Gestalt der Tumoren wurde in 73 Fällen durchgeführt, wobei ein Zusammenhang der Tumorform mit Zervixfläche, Karzinomfläche und „Tumorfreier Randzone“ analysiert wurde. Es ergab sich weder bei Zusammenschau von Zervixfläche und Form ($p = 0,201$), noch bei Karzinomfläche und Form ($p = 0,144$) ein signifikanter Unterschied zwischen kreisförmigen, ellipsoiden, rechteckigen oder irregulären Tumoren. Für die „Tumorfreie Randzone“ waren die Ergebnisse nicht konklusiv und selbst eine Zusammenfassung der Formen Kreis, Ellipse und Rechteck zu einer Gruppe (= Reguläre Form) ergab keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,095$) zur Gruppe der Tumoren irregulärer Gestalt.

Um das Überleben der Patientinnen einer statistischen Analyse zu unterziehen, wurde mit unterschiedlichen Variablen das rezidivfreie Überleben mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode ermittelt. In der ersten Tabelle wurden die Fälle abhängig vom diagnostizierten Stadium in drei Gruppen in ansteigender Beobachtungszeit aufgelistet, und nach jedem Ereignis die Überlebenswahrscheinlichkeit für die Anzahl der verbliebenen Fälle ausgegeben. Über das gesamte analysierte Kollektiv ($N = 92$) konnte abhängig vom Stadium ein Mittelwert von 5,9 Jahren bei Stadium IB, 6,3 Jahren bei Stadium IIA und 7,2 Jahren bei Stadium IIB für das Überleben bestimmt werden. Mit einer Signifikanz von $p = 0,527$ im Log Rank Test war ein signifikanter Unterschied der Überlebensfunktionen für die drei klinischen Stadien von Zervixkarzinomen nicht nachzuweisen. Als Ursache dafür dürfte die geringe Zahl an untersuchten Fällen anzusehen sein.

Von den insgesamt 92 Patientinnen starben 12. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug auf das gesamte Kollektiv bezogen 71,7%.

Bei Betrachtung des Tumolvolumens ($N = 87$) wurde für die Gruppen $\leq 5 \text{ cm}^3$, $5,001 - 15 \text{ cm}^3$ und $> 15 \text{ cm}^3$ ein mittleres Überleben von 4,8, 4,3 und 8,5 Jahren erhoben. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Überleben der einzelnen Gruppen ($p = 0,224$).

Von 87 untersuchten Fällen hatten 10 Patientinnen ein Ereignis. Das 5-Jahres-Überleben in dieser Gruppe lag bei 85,0%.

Der Tumor-Zervix-Quotient als prognostischer Faktor für das Überleben wurde mit 92 Fällen untersucht und ergab für das Patientenkollektiv ein mittleres Überleben von 4,6 Jahren für Quotienten kleiner-gleich 0,33, 7,7 Jahren bei Quotienten zwischen 0,34 und

0,67, und 7,9 Jahren für die Gruppe mit Quotienten über 0,67. Der erwartete signifikante Unterschied im Überleben der Gruppen konnte auch in diesem Fall nicht bewiesen werden ($p = 0,515$).

Aufgeteilt auf die einzelnen Subgruppen von Patienten ergaben sich in Tabelle 19 aufgelistete 5-Jahres-Überlebensraten:

Tabelle 19: Übersicht über das 5-Jahres-Überleben, aufgelistet nach Patientensubgruppen

Prognosefaktor	Stadium/Gruppe	Anzahl	Todesfälle	5-Jahres-Überleben
FIGO Stadium	IB	62	6	0,884
	IIA	5	1	0,500
	IIB	25	5	0,767
Tumorzvolumen	$\leq 5 \text{ cm}^3$	30	1	0,958
	5,001 - 15 cm^3	28	5	0,751
	$> 15 \text{ cm}^3$	29	4	0,841
Tumor-Zervix-Quotient	$\leq 0,33$	29	2	0,915
	0,34 – 0,67	37	5	0,822
	$> 0,67$	26	5	0,766

Zur Visualisierung der ermittelten Ergebnisse wurden die vorliegenden Überlebensfunktionen ausgegeben:

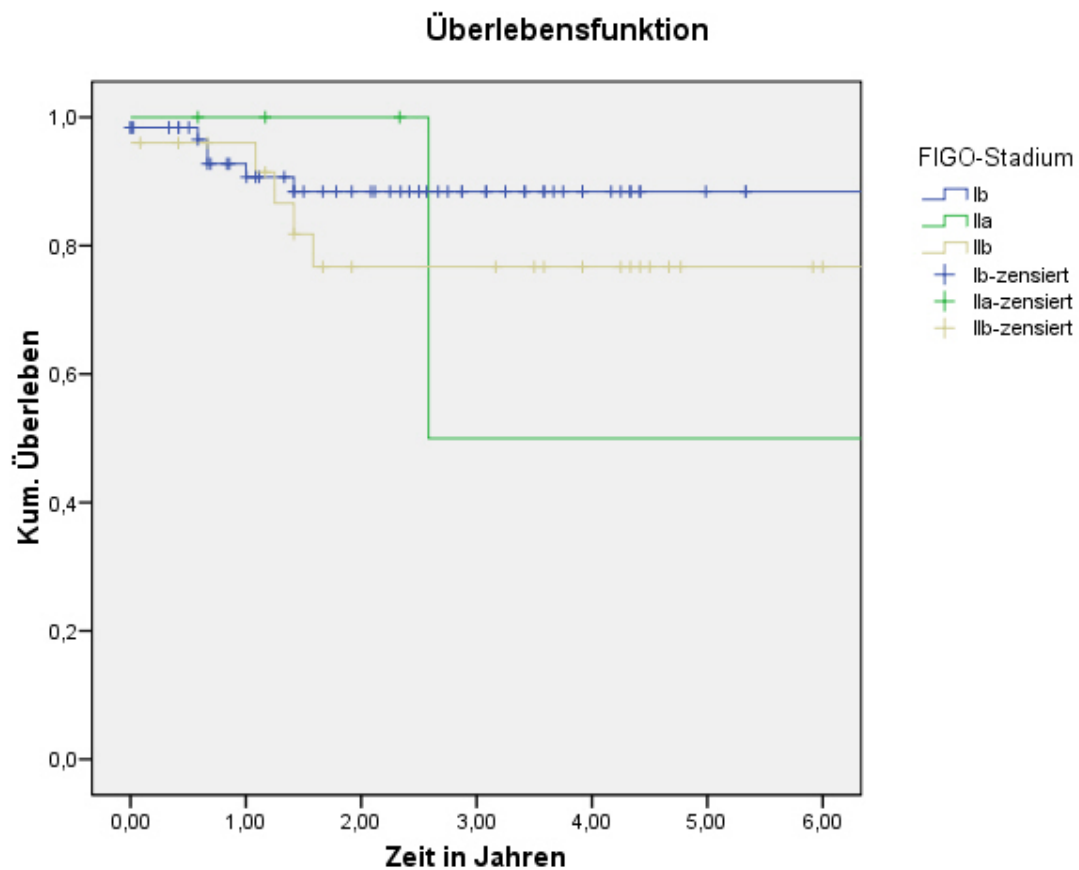


Abbildung 19: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach FIGO-Stadium

Abhängig vom Stadium bei Diagnose ergaben sich aufgeteilt auf die drei untersuchten Stadien IB, IIA und IIB 5-Jahres-Überlebensraten von 88,4%, 50,0% und 76,7%. Die schlechte Rate der Gruppe IIA ist auf die geringe Fallzahl zurückzuführen (1 „frühes“ Ereignis bei 5 Fällen).

Oben beschriebenes Prozedere wurde auch mit 3 definierten Gruppen von Tumorziffern durchgeführt und führte dabei zu folgenden Ergebnissen:

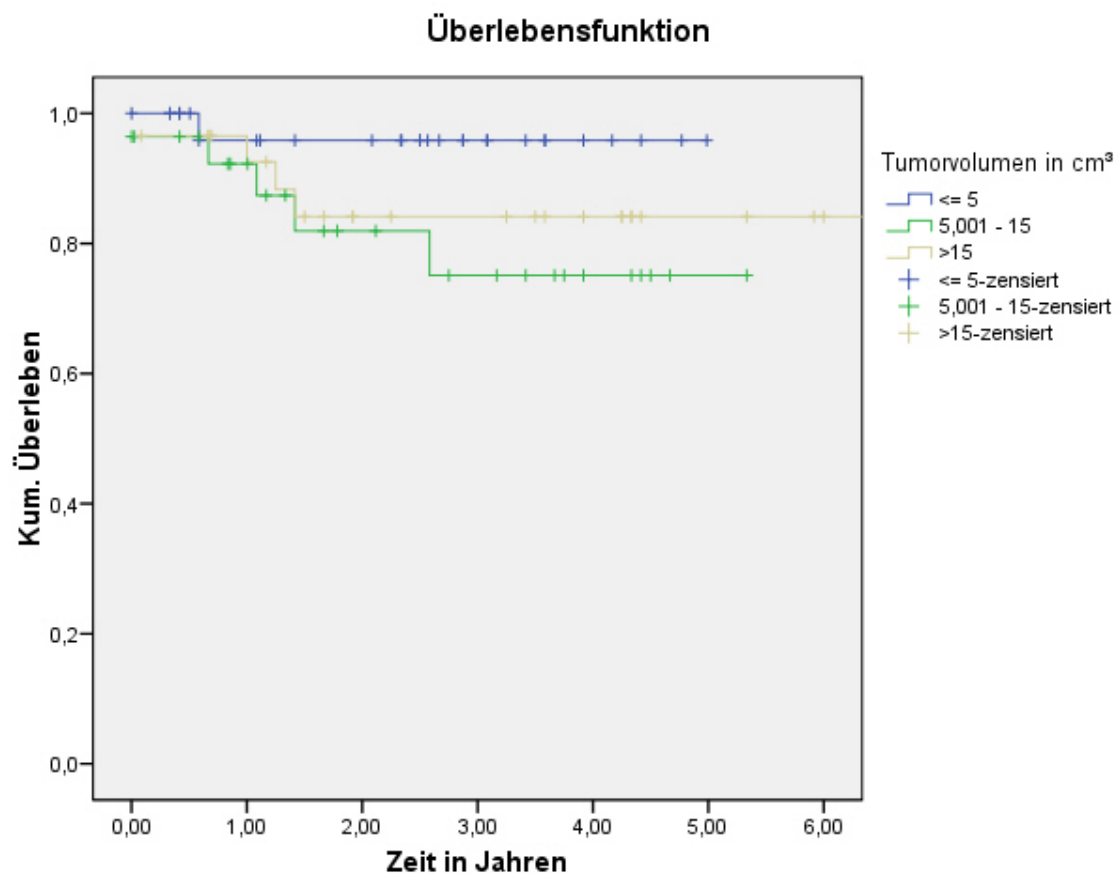


Abbildung 20: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach Tumorzellen

Das 5-Jahres-Überleben der drei Gruppen von ansteigendem Tumorzellen betrug für die Gruppen $\leq 5\text{cm}^3$, $5,001 - 15\text{cm}^3$ und $>15\text{cm}^3$ in gleicher Reihenfolge 95,8%, 75,1% und 84,1%.

Die Analyse des Überlebens in Abhängigkeit vom vorliegenden Tumor-Zervix-Quotient brachte folgende Funktion:

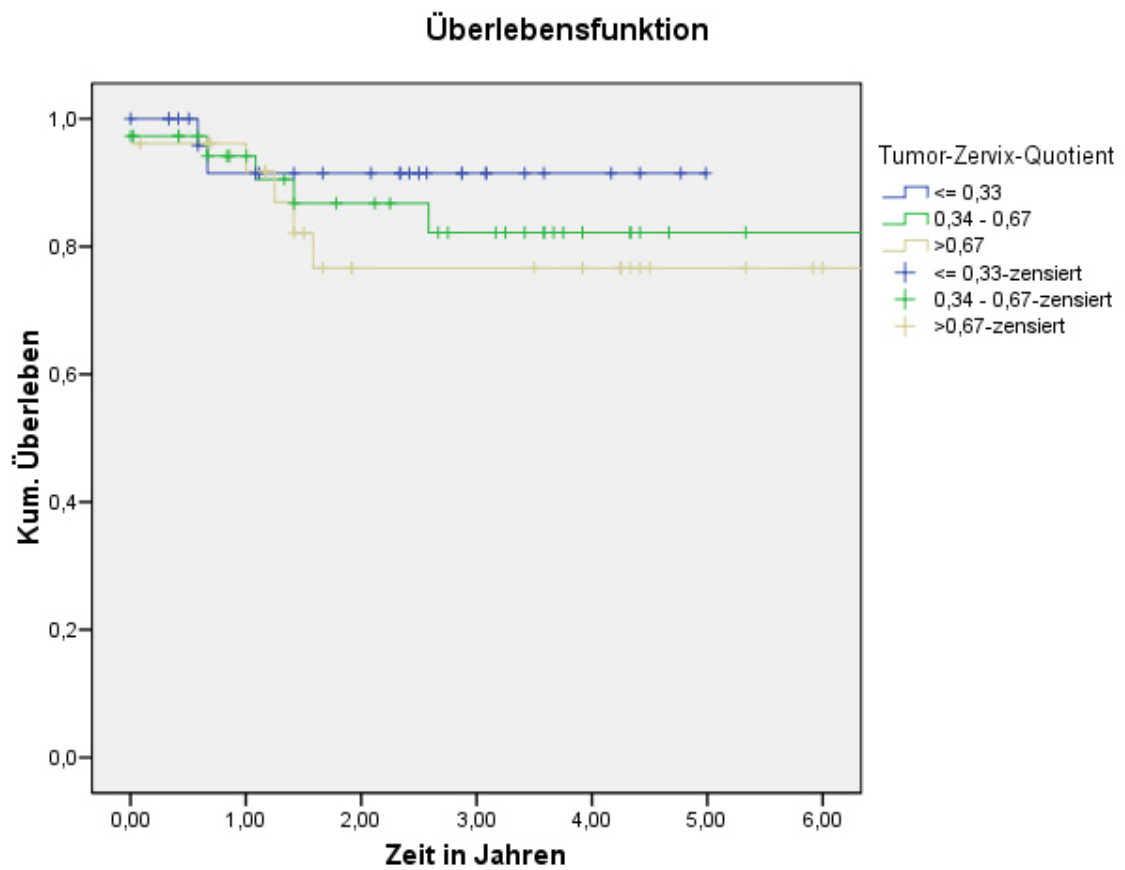


Abbildung 21: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion, gruppiert nach Tumor-Zervix-Quotient

Für das 5-Jahres-Überleben ergab dies für die drei Gruppen ($\leq 0,33$ / $0,34 - 0,67$ / $> 0,67$) mit ansteigendem Quotienten die Werte 91,5%, 82,2% und 76,6%.

4 Diskussion

4.1 Überlegungen zur Arbeit

Um eine möglichst suffiziente Vergleichbarkeit von Erkrankungsverläufen und/oder Behandlungsergebnissen unterschiedlichster Krankheitsentitäten zu erhalten, ist es ein großes Bestreben der Medizin objektive Parameter (2) zu finden, die, egal von welcher Person erhoben, immer dasselbe Ergebnis zur Folge haben, in diesem Sinne Beobachter-unabhängig sind. Der Suche nach solchen Parametern ging der besonders in morphologischen, speziell chirurgischen Fächern gängige Usus voraus, Krankheitsbilder klinisch mit subjektiven Kriterien zu beurteilen, was im Einzelfall ausreichend exakt, im Vorliegen großer Fallzahlen für Studien oder epidemiologische Betrachtungen, ein großes Problem für die Auswertung darstellte. Die Absichten gingen daher bereits in der Vergangenheit in die Richtung, objektive Parameter für die Prognose des Zervixkarzinoms zu finden und deren statistische Relevanz zu überprüfen. Da es sich im Falle der gynäkologischen Onkologie um einen morphologischen Fachbereich handelt, und molekulargenetische Analysen mitte der 80er-Jahre noch nicht entwickelt waren, stützte sich die Prognoseabschätzung auf die morphometrische Analyse des Karzinoms. Pickel et al. (1988) verglichen und analysierten in einer Serie von 359 Patientinnen mit Zervixkarzinom sieben unterschiedliche Prognosefaktoren (Tumor-Zervix-Quotient, Zahl positiver Lymphknoten, Infiltration großer Gefäße, exophytisches Wachstum, Invasion des Parametriums, Lymphknotenbeteiligung, Zahl von Mitosen), wobei bei statistischer Analyse für das Überleben als bedeutendster Faktor die Relation von Tumorgroße zu Zervixgröße (Tumor-Zervix-Quotient) hervor ging (2). Ausschließlich das Ausmaß der Tumormasse korrelierte zudem als Prognosefaktor mit anderen untersuchten Faktoren.

Die Größe eines Tumors liefert eine nahe liegende Möglichkeit einer objektiven Messung, welche klinisch, pathologisch oder durch radiologische Bildgebung des Tumorareals durch den Untersucher verhältnismäßig einfach bestimmt werden kann. Sowohl im Falle radiologischer Darstellung, sei es durch Ultraschall, Magnetresonanztomografie oder Computertomographie, als auch bei histologischer/pathologischer Aufarbeitung erfolgt die Vermessung von Flächen aus Schnittbildern der zu interessierenden Struktur. Der dreidimensionalen Ausdehnung von Körpern muss also in Form mathematischer Modelle Rechnung getragen werden. Die theoretische Grundlage dafür liefert die Stereologie (3), welche es ermöglicht, aus Messresultaten zweidimensionaler Strukturen (in diesem Falle

histologische Großflächenschnitte der Zervix) Rückschlüsse auf den dreidimensionalen Körper, welchen die Summe der einzelnen Schnittserien ergeben würde, zu ziehen. Die Morphometrie ermöglicht als Ergänzung die Charakterisierung der Form von Körpern, indem sie deren geometrische Eigenschaften beschreibt.

4.2 Andere Arbeitsgruppen und deren Ergebnisse

Mit der prognostischen Relevanz von Tumolvolumen speziell gynäkologischer Tumoren beschäftigten sich bereits Arbeitsgruppen in den 1980ern. Neben der bereits zuvor erwähnten Studie von Pickel et al. (1988), in der Tumorgöße als ein bedeutender prognostischer Faktor aus der statistischen Analyse einer Vielzahl morphometrischer Faktoren hervorging, gab es auch in den Folgejahren immer wieder Arbeiten zum Thema Zervixkarzinom, die sich mit der prognostischen Relevanz von Tumolvolumen beschäftigten. So wurde unter anderem von Winter et al. (57) bei einer Gruppe von 351 Zervixkarzinom-Patientinnen, welche nachweislich frei von pelvinen Lymphknotenmetastasen waren eine mögliche neoplastische Beteiligung des Parametriums in Abhängigkeit vom Tumolvolumen untersucht. Es zeigten sich bei steigendem Tumolvolumen ein signifikanter Anstieg in der Zahl der Fälle mit parametrialer Beteiligung und ein damit verbundenes schlechteres Überleben. (Tu-Vol.: < 5ml → 6,7% Wahrscheinlichkeit für parametriale Beteiligung; Tu-Vol.: > 20ml → 33% parametriale Beteiligung)

In der Mehrzahl der Fälle wurde bei der Vermessung des Karzinoms auf ein bildgebendes Verfahren zurückgegriffen. Als am besten geeignetes Verfahren wurde dabei die Magnetresonanz (MRI) erachtet (58), welche ausgezeichnet durch guten Weichteilkontrast, den anderen Verfahren wie Computertomographie (CT) oder gar klinische Untersuchung in punkto Größenbestimmung und Beteiligung des restlichen Uterus (Corpus uteri) überlegen war (Spearman Korrelationskoeffizient: MR/Pathologie $r_s = 0,54$; CT/Pathologie $r_s = 0,45$; Klinische Untersuchung/Pathologie $r_s = 0,37$). Mitchell et al. ermittelten allerdings auch, dass selbst die MRI aufgrund schlechter Detailauflösung und Artefaktanfälligkeit für die Beurteilung des zervikalen Bindegewebes (Parametrium) nicht das geeignete Verfahren sei.

Sahdev et al. (59) beobachteten die Rolle der MRI an einem Kollektiv von 150 Patienten, indem Tumorlokalisierung, Größe, parametriale und myometriale Invasion,

Lymphknotengröße und –lokalisierung mittels MR bestimmt und durch chirurgische Maßnahmen, pelvine Lymphadenektomie und histologische Untersuchung überprüft wurden. Lediglich die Beurteilung der pelvinen Lymphknoten wurde durch die Verwendung der Magnetresonanz in dieser Untersuchung aufgrund der kleinen Dimensionen nur unbefriedigend gelöst (7 detektierte Fälle von 19 betroffenen Patienten). Eine gute Übereinstimmung konnte bei Vergleich von MR- versus histologisches Staging und bei der Volumetrie (MR versus Pathologie) mit einer durchschnittlichen Abweichung von 9 mm. Die Messwerte sowohl aus dem MR als auch aus der histopathologischen Auswertung wurden dabei durch eine Vermessung des sichtbaren Tumors in anteroposteriorer, craniocaudaler und lateraler Ausdehnung und Auswahl der Dimension mit maximaler Tumorausbreitung ermittelt.

Eine ähnliche Vorgehensweise wurde von Narayan et al. (60) gewählt, der die Bedeutung des Tumolvolumens und der Infiltration des Corpus uteri für das Überleben von Patientinnen mit fortgeschrittenem Zervixkarzinom (FIGO Stadium IB – IVA) untersuchte. Die 179 untersuchten Patientinnen wurden radiotherapeutisch behandelt, die Messung und Beurteilung erfolgte an MR-Aufnahmen, (Durchmesser in drei Dimensionen und Volumsberechnung mit $\pi/6$) und brachte den Schluss einer engen Korrelation zwischen FIGO Stadium, Tumolvolumen und Corpusinvasion. Bei der Untersuchung des Gesamtüberlebens der Patientinnen stellten sich bei der univariaten Analyse mit 6 verschiedenen prognostischen Faktoren (FIGO Stadium, Klinischer Tumordurchmesser, Histologie, Alter bei Behandlungsbeginn, Corpusinvasion, Tumolvolumen) Volumen und Corpusinvasion als Faktoren mit größter statistischer Signifikanz ($p < 0,001$) heraus, beeinflussten das Gesamtüberleben also nachhaltig. In der multivariaten Analyse waren diese beiden Faktoren die einzigen unabhängigen Variablen in Bezug auf das Gesamtüberleben.

4.3 Limitationen der Arbeit

Die Grundlage für diese Arbeit bildete ein computergestütztes Messverfahren und die Berechnung von Volumina. Es stand dabei die Frage im Raum, wie genau ein solches Verfahren sein müsse, um die offene Fragestellung befriedigend beantworten zu können.

Das verwendete Messverfahren ist aufgrund seiner einfachen Anwendung sehr rasch auf einer Menge histologischer Schnitte umzusetzen. Eine Schwäche zeigt dieses Verfahren allerdings, da es mit dem Messergebnis ausschließlich einer repräsentativen Schicht

auskommen muss, um eine Abschätzung des Volumens ermitteln zu können. Im Idealfall müssten Messungen mit einer Serie von histologischen Schnitten aus einem Tumor mit möglichst geringem Abstand zwischen den gefertigten Schnittbildern durchgeführt und mit einem aufwendigeren mathematischen Modell anschließend eine Volumensbestimmung erfolgen. Dies hätte geringe Auswirkungen bei der Bestimmung des Volumens in einzelnen Fällen. Des Weiteren finden sich bei genauer Betrachtung auch andere Faktoren, welche eine Abweichung der gemessenen von der tatsächlichen Größe verursachen könnten. So variiert die Größe des histologischen Präparates in Abhängigkeit von Streckung oder Stauchung zum Zeitpunkt der histologischen Aufarbeitung bis zur Einbettung. Die Markierung von Tumor- und Zervixgrenzen mit Stift durch den Pathologen garantiert die korrekte Messung; durch eine Dicke der Markierung von 1 – 2 mm ergibt sich im markierten Bereich aufgrund der nicht differenzierbaren exakten Grenze zwischen Zervix- und Tumorgewebe ein gewisser Messfehler.

Bei Anwendung desselben Messverfahrens auf alle beobachteten Fälle einer Gruppe ergibt sich jedoch auch der gleiche Messfehler für alle getesteten Individuen. Die statistische Überprüfung beweist deshalb trotz des zu erwartenden Messfehlers den prognostischen Wert von Tumolvolumen auf das Überleben.

Einen limitierenden Faktor auf die statistische Auswertung stellt die zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit vorliegende geringe Fallzahl von Patienten mit vollständigen Datensatz zu Behandlung und Verlauf dar. Ergänzungen in diesem Bereich bzw. eine Erhöhung der Fallzahl auf repräsentatives Niveau würden sich positiv auf die Gewinnung konklusiver Ergebnisse auswirken und die Bedeutung der untersuchten Faktoren untermauern.

4.4 Perspektiven für die Zukunft

Zur Erfüllung der Aufgabenstellung wurde ein einfaches, aber exaktes Messverfahren entwickelt, welches aufgrund seines geringen technischen, personellen und damit finanziellen Aufwands in die Routine übergehen kann. Es bedarf weiterer Untersuchungen bei Vorliegen der gesamten gewonnenen Datenmenge, um zum einen die prognostische Relevanz untersuchter Faktoren (Tumolvolumen, Tumor-Zervix-Quotient) zu beweisen, und zum anderen, um im Messverfahren erhobene neue Werte wie die „Tumorfremde Randzone“ auf ihre Bedeutung hin zu überprüfen. Untersuchungen sind weiters auf dem

Gebiet der Formanalyse zu tätigen, um erwartete Messfehler (Überschätzung des Volumens durch Verwendung des Feret-Durchmessers bei irregulärer Tumorform) auf ein möglichst geringes Maß zu reduzieren (Modelluntersuchungen und Entwicklung eines Umrechnungsfaktors).

5 Literaturverzeichnis

1. *Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P.* Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55:74-108.
2. *Pickel H, Haas J, Lahousen M.* Prognostic factors in cervical cancer on the basis of morphometric evaluation. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1988;2:805-15.
3. *Haas J.* Tumormetric measurements and morphometry in cervical cancer. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1988;2:781-7.
4. *Lee KB, Lee JM, Park CY, Lee KB, Cho HY, Ha SY.* What is the difference between squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix? A matched case-control study. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16:1569-73.
5. *Grisaru D, Covens A, Chapman B, Shaw P, Colgan T, Murphy J, et al.* Does histology influence prognosis in patients with early-stage cervical carcinoma? *Cancer.* 2001;92:2999-3004.
6. *WHO.* Comprehensive cervical cancer control. A guide to essential practice. World Health Organisation. 2006.
7. *Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Barros-Dios XM, Borrás J, Parkin DM.* International trends in incidence of cervical cancer: II. Squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2000;86:429-35.
8. *Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Barros-Dios XM, Parkin DM.* International trends in the incidence of cervical cancer: I. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. *Int J Cancer.* 1998;75:536-45.
9. *Arbyn M, Raifu AO, Autier P, Ferlay J.* Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Ann Oncol.* 2007;18:1708-15.
10. *Paepke.* Gynäkologie und Geburtshilfe. M Kiechle; 2007.

11. *Boulet G, Horvath C, Vanden Broeck D, Sahebali S, Bogers J.* Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:2006-11.
12. *Steben M, Duarte-Franco E.* Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol.* 2007;107:S2-5.
13. *Arends MJ, Buckley CH, Wells M.* Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J Clin Pathol.* 1998;51:96-103.
14. *Woodman CB, Collins SI, Young LS.* The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer.* 2007;7:11-22.
15. *Sheu BC, Chang WC, Lin HH, Chow SN, Huang SC.* Immune concept of human papillomaviruses and related antigens in local cancer milieu of human cervical neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33:103-13.
16. *Stanley M.* Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 1:S16-22.
17. *Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM, ALTS Group.* A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis.* 2007;195:1582-9.
18. *International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, et al.* Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet.* 2007;370:1609-21.
19. *Wright TC.* Cervical cancer screening in the 21st century: is it time to retire the PAP smear? *Clin Obstet Gynecol.* 2007;50:313-23.

20. *Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al.* Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119:1095-101.
21. *Bofin AM, Nygård JF, Skare GB, Dybdahl BM, Westerhagen U, Sauer T.* Papanicolaou smear history in women with low-grade cytology before cervical cancer diagnosis. *Cancer.* 2007;111:210-6.
22. *Gupta S, Sodhani P.* Why is high grade squamous intraepithelial neoplasia under-diagnosed on cytology in a quarter of cases? Analysis of smear characteristics in discrepant cases. *Indian J Cancer.* 2004;41:104-8.
23. *Lellé RJ, Cordes A, Regidor M, Maier E, Flenker H.* [Comparison of the ThinPrep monolayer technique and conventional cervical Pap smears in a high-risk population using the Munich II nomenclature]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch.* 2007;47:81-7.
24. *Denton KJ.* Liquid based cytology in cervical cancer screening. *BMJ.* 2007;335:1-2.
25. *Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Dalla Palma P, Naldoni C, et al.* Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ.* 2007;335:28.
26. *Strander B, Andersson-Ellström A, Milsom I, Rådberg T, Ryd W.* Liquid-based cytology versus conventional Papanicolaou smear in an organized screening program : a prospective randomized study. *Cancer.* 2007;111:285-91.
27. *Davey E, d'Assuncao J, Irwig L, Macaskill P, Chan SF, Richards A, Farnsworth A.* Accuracy of reading liquid based cytology slides using the ThinPrep Imager compared with conventional cytology: prospective study. *BMJ.* 2007;335:31.
28. *Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-9.

29. *Bory JP, Cucherousset J, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P, Clavel C.* Recurrent human papillomavirus infection detected with the hybrid capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions: a longitudinal study of 3,091 women. *Int J Cancer.* 2002;102:519-25.
30. *Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, et al.* Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med.* 2007;357:1589-97.
31. *Palanuwoong B.* Alternative cervical cancer prevention in low-resource settings: Experiences of visual inspection by acetic acid with single-visit approach in the first five provinces of Thailand. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2007;47:54-60.
32. *Gaffikin L, McGrath JA, Arbyn M, Blumenthal PD.* Visual inspection with acetic acid as a cervical cancer test: accuracy validated using latent class analysis. *BMC Med Res Methodol.* 2007;7:36.
33. *Ostör AG.* Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol.* 1993;12:186-92.
34. *Benedet JL, Bender H, Jones H, Ngan HY, Pecorelli S.* FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000;70:209-62.
35. *Roman LD, Felix JC, Muderspach LI, Agahjanian A, Qian D, Morrow CP.* Risk of residual invasive disease in women with microinvasive squamous cancer in a conization specimen. *Obstet Gynecol.* 1997;90:759-64.
36. *Dursun P, LeBlanc E, Nogueira MC.* Radical vaginal trachelectomy (Dargent's operation): a critical review of the literature. *Eur J Surg Oncol.* 2007;33:933-41.
37. *Sonoda Y, Chi DS, Carter J, Barakat RR, Abu-Rustum NR.* Initial experience with Dargent's operation: the radical vaginal trachelectomy. *Gynecol Oncol.* 2008;108:214-9.

38. *Piver MS, Rutledge F, Smith JP.* Five classes of extended hysterectomy for women with cervical cancer. *Obstet Gynecol.* 1974;44:265-72.
39. *Mota F, Vergote I, Trimbos JB, Amant F, Siddiqui N, Del Rio A, et al.* Classification of radical hysterectomy adopted by the Gynecological Cancer Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2007.
40. *Acs, Gombos.* Prognostic Factors and New Methods in Cervical Carcinoma. *Pathology Case Reviews.* 2006;11:130-9.
41. *Burghardt E, Pickel H, Haas J, Lahousen M.* Prognostic factors and operative treatment of stages IB to IIB cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156:988-96.
42. *Fedorkow DM, Robertson DI, Duggan MA, Nation JG, McGregor SE, Stuart GC.* Invasive squamous cell carcinoma of the cervix in women less than 35 years old: recurrent versus nonrecurrent disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;158:307-11.
43. *Patanaphan V, Poussin-Rosillo H, Villa Santa U, Salazar OM.* Cancer of uterine cervix stage IB. Treatment results and prognostic factors. *Cancer.* 1986;57:866-70.
44. *De Los Santos JF, Thomas GM.* Anemia correction in malignancy management: threat or opportunity? *Gynecol Oncol.* 2007;105:517-29.
45. *Vaupel P, Mayer A.* Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev.* 2007;26:225-39.
46. *Fujimoto J, Sato E, Alam SM, Jahan I, Toyoki H, Hong BL, et al.* Plausible linkage of hypoxia-inducible factor (HIF) in uterine endometrial cancers. *Oncology.* 2006;71:95-101.
47. *Phoophitphong T, Hanprasertpong J, Dechsukhum C, Geater A.* Correlation of angiogenesis and recurrence-free survival of early stage cervical cancer patients undergoing radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33:840-8.

48. *Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J.* Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991;324:1-8.
49. *Dellas A, Moch H, Schultheiss E, Feichter G, Almendral AC, Gudat F, Torhorst J.* Angiogenesis in cervical neoplasia: microvessel quantitation in precancerous lesions and invasive carcinomas with clinicopathological correlations. *Gynecol Oncol.* 1997;67:27-33.
50. *Cantu De León D, Lopez-Graniel C, Frias Mendivil M, Chanona Vilchis G, Gomez C, De La Garza Salazar J.* Significance of microvascular density (MVD) in cervical cancer recurrence. *Int J Gynecol Cancer.* 2003;13:856-62.
51. *Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, Matsui H, Seki K, Sekiya S.* Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer.* 2005;103:724-30.
52. *Wright JD, Viviano D, Powell MA, Gibb RK, Mutch DG, Grigsby PW, Rader JS.* Bevacizumab combination therapy in heavily pretreated, recurrent cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2006;103:489-93.
53. *Wright JD, Powell MA, Rader JS, Mutch DG, Gibb RK.* Bevacizumab therapy in patients with recurrent uterine neoplasms. *Anticancer Res.* 2007;27:3525-8.
54. *Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang PJ, Acs G.* Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res.* 2005;11:8364-71.
55. *Gao P, Zhou GY, Yin G, Liu Y, Liu ZY, Zhang J, Hao CY.* Lymphatic vessel density as a prognostic indicator for patients with stage I cervical carcinoma. *Hum Pathol.* 2006;37:719-25.
56. *Rasband WS, ImageJ.* U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2007.

57. *Winter R, Haas J, Reich O, Koemetter R, Tamussino K, Lahousen M, et al.* Parametrial spread of cervical cancer in patients with negative pelvic lymph nodes. *Gynecol Oncol.* 2002;84:252-7.
58. *Mitchell DG, Snyder B, Coakley F, Reinhold C, Thomas G, Amendola M, et al.* Early invasive cervical cancer: tumor delineation by magnetic resonance imaging, computed tomography, and clinical examination, verified by pathologic results, in the ACRIN 6651/GOG 183 Intergroup Study. *J Clin Oncol.* 2006;24:5687-94.
59. *Sahdev A, Sohaib SA, Wenaden AE, Shepherd JH, Reznik RH.* The performance of magnetic resonance imaging in early cervical carcinoma: a long-term experience. *Int J Gynecol Cancer.* 2007;17:629-36.
60. *Narayan K, Fisher R, Bernshaw D.* Significance of tumor volume and corpus uteri invasion in cervical cancer patients treated by radiotherapy. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16:623-30.

Lebenslauf

PERSONALIEN

Vor- und Zunahme	Thorsten Maier
Familienstand	ledig
Religionsbekenntnis	römisch-katholisch
Geburtsdatum	03.10.1980
Geburtsort	Bruck an der Mur

SCHULBILDUNG

1987 – 1991	Volksschule Oberaich (4 Jahre)
1991 – 1999	Bundesgymnasium Bruck an der Mur, humanistischer Zweig
Juni 1999	Reifeprüfung mit Auszeichnung

Oktober 1999 bis April 2000	Österreichisches Bundesheer
--------------------------------	-----------------------------

Herbst 2000 bis Sommer 2001	Pilotenselektionen bei Austrian Airlines (1x Wien, 2x Zürich)
--------------------------------	--

September 2001 bis Februar 2002	Montanuniversität Leoben, Studienrichtung: Montanmaschinenwesen
------------------------------------	--

Ab Jänner 2002	Als Helfer beim Roten Kreuz tätig und zum Sanitäter ausgebildet (mit Auszeichnung)
----------------	---

April 2002 bis Juni 2002	Ausbildung zum diplomierten Heilmasseur und Heilbademeister (mit Auszeichnung)
-----------------------------	---

UNIVERSITÄRE MEDIZINISCHE AUSBILDUNG

Seit Oktober 2003	Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz: <ul style="list-style-type: none">– September 2003: Abschluss des 1. Studienabschnitts– September 2007: Abschluss des 2. Studienabschnitts– seit Oktober 2008: Laufender 3. Studienabschnitt
-------------------	---

SPEZIELLE STUDIENMODULE

- Klinisch-topografische Anatomie der Kopf-Hals-Region
- Modernste Methoden zur Messung der Body Composition
- Klinisch-topografische Anatomie der Extremitäten
- Klinisch-topografische Anatomie der Eingeweide

– Von der Theorie zur Praxis: Chirurgische Operationslehre

FAMULATUREN

August 2004	Krankenhaus Hallein (Salzburg) Anästhesie und Intensivmedizin
Juli 2005	Landeskrankenhaus Klagenfurt (Kärnten) Fachabteilung für Innere Medizin
August 2005 bis September 2005	Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum (Deutschland / Berlin) Unfall- und Wiederherstellungschirurgie
August 2006 bis September 2006	LKH Univ. Klinikum Graz (Steiermark) Universitätsklinik für Neurochirurgie
September 2006	Landesnervenlinik Wagner-Jauregg Linz (Oberösterreich) Fachabteilung für Neurochirurgie
Juli 2007	LKH Univ. Klinikum Graz (Steiermark) Universitätsklinik für Radiologie