

II. Medizinische Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München

Klinikum rechts der Isar

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. R.M. Schmid)

Vergrößerung der diagnostischen Gewebeausbeute in der Endoskopie durch eine
veränderte Biopsiemethode – Doppel- bzw. Dreifachbiopsie – und Einführung
eines neuen endoskopischen Instruments, der Zytospirale

Philipp Becker

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier
Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. E. Frimberger
2. Univ.-Prof. Dr. F. Fend

Die Dissertation wurde am 28.10.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 09.04.2003 angenommen.

Den Glasperlenspielern und Morgenlandfahrern

Inhaltsverzeichnis

1.	Abkürzungsverzeichnis	5
2.	Einleitung	6-7
3.	Problemstellung	8
4.	Theoretische Grundlagen	9
4.1.	Entwicklung der Endoskopie	9-13
4.2.	Die endoskopische Biopsie	14
4.3.	Techniken der endoskopischen Biopsie	15
4.4.	Instrumente zur Gewinnung von Gewebe im Gastrointestinaltrakt und im pankreatikobiliären System	16-19
5.	Material und Methodik	19
5.1.	Die Zytospirale	19-21
5.2.	Gewebematerial	
5.2.1.	Gewebeproben von Schweinen	22
5.2.2.	Biopsien von Patienten	22-23
5.3.	Indikationen für die durchgeführten Endoskopien	24
5.4.	Der Endoskopiesimulator	25-26
5.5.	Techniken der Probenentnahme	27
5.5.1.	Techniken mit der Biopsiezange	27
5.5.2.	Technik mit der endoskopischen Bürste	27
5.5.3.	Technik mit der Zytospirale	28-29

5.6.	Quantifizierung der Gewebeproben	30
5.6.1.	Materialverarbeitung	30
5.6.2.	Quantitative Proteinbestimmung	30
5.6.2.1.	Prinzip des Proteinassays	31
5.6.2.2.	Durchführung der kolorimetrischen Proteinbestimmung	31-32
5.7.	Statistische Auswertung	32
5.8.	Verwendete Materialien	33-34
6.	Ergebnisse	35
6.1.	Vergleich dreier Zangen mit unterschiedlichen Branchen bezüglich der Proteinmenge der mit ihnen gewonnenen Biopsien	36-39
6.2.	Vergleich einer Einfach- mit einer Doppelbiopsie bezüglich der gewonnenen Proteinmenge	39-47
6.3.	Vergleich einer Endoskopiebürste, einer Biopsiezange mit Dorn, der Multibitezange und der Zytospirale bezüglich der gewonnenen Proteinmenge	48-51
7.	Diskussion	52-56
8.	Zusammenfassung	57-58
9.	Literaturverzeichnis	59-70
10.	Anhang	71
10.1	Lebenslauf	71
10.2	Danksagung	72

1. Abkürzungsverzeichnis

Abb. = Abbildung

EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure

mg = Milligramm

min = Minuten

ml = Milliliter

mm = Millimeter

µg = Mikrogramm

n = Anzahl der Fälle

NaCl = Natriumchlorid

nm = Nanometer

n.s. = nicht signifikant

* = $p < 0,05$ (signifikant)

2. Einleitung

Die gastrointestinale und pankreobiliäre Endoskopie hat in den vergangenen Jahrzehnten zahlreiche Neuerungen hervorgebracht. Beispiele sind die Entwicklung von der Glasfaser- zur Videoptik, neue Methoden der Intervention wie die endoskopische Abtragung von Polypen, die endoskopische Papillotomie, die Implantation von Stents im gastrointestinalen und pankreobiliären Bereich und die endoskopische Mukosaresektion. Die Methoden zur endoskopischen Gewinnung von Gewebe wurden jedoch kaum verbessert. So unterscheiden sich beispielsweise die Biopsiezangen lediglich in der Ausgestaltung des Zangenmauls, das nur in Volumen, Form, Zähnelung und durch das Vorhandensein eines Dorns Variationen aufweist (Abb.1). Prinzipielle technische Innovationen wurden nicht vorgestellt [74].

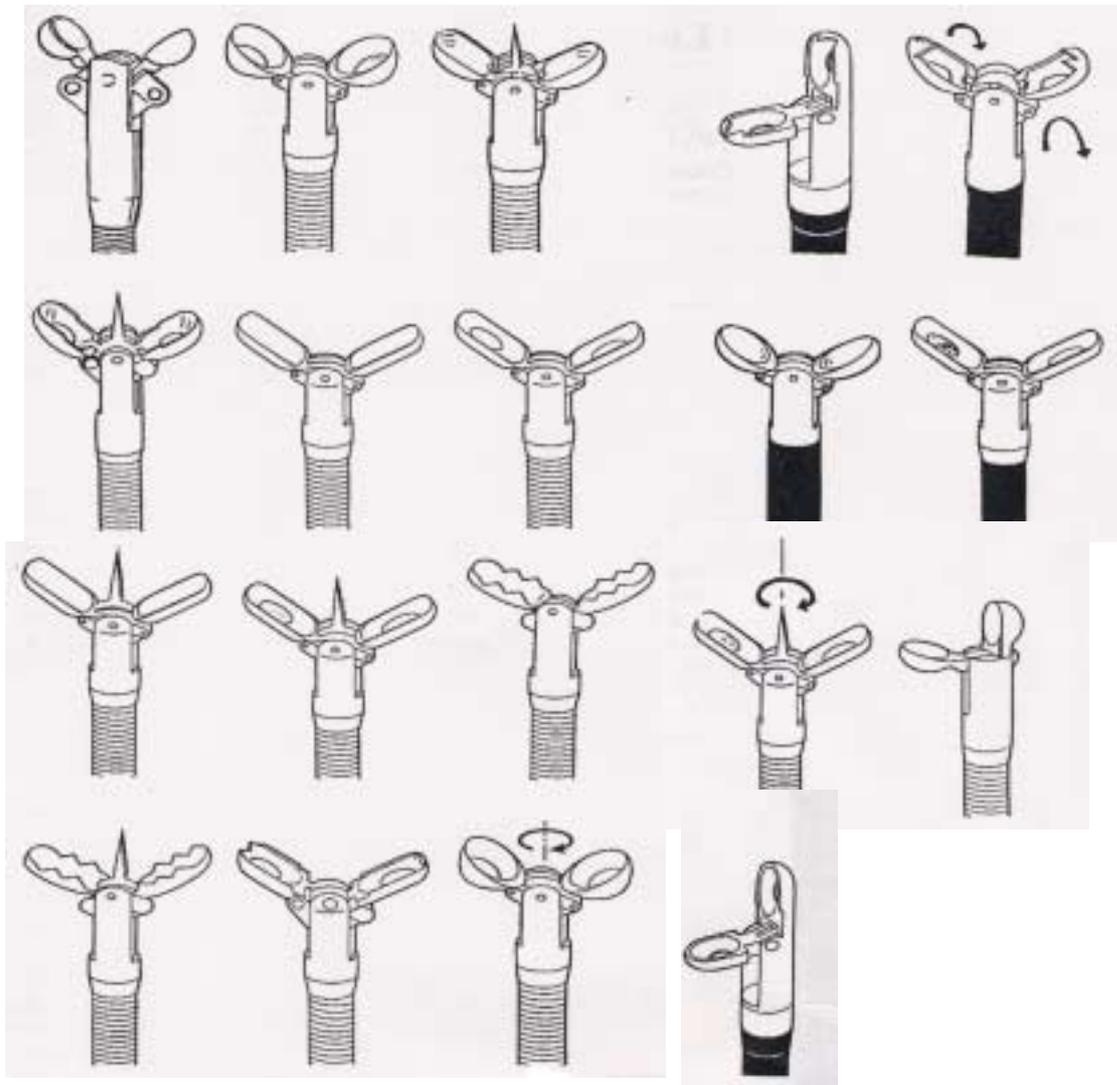


Abb. 1: Verschiedene konventionelle endoskopische Biopsiezangen [74]

Ebenso blieben endoskopische Zytologiebürsten weitgehend unverändert. Ihre Effektivität bei der Materialgewinnung wurde somit nicht verbessert. Neue Instrumente zur Gewinnung von Material für die Zytologie, wie z.B. aufblasbare mit kleinen Stacheln oder mit einem netzartigen Überzug versehene Ballons, Metallgitter oder mit einem Baumwollnetz überzogene Plastikröhren, die sich bei Benutzung zu einer Schlaufe formen lassen, haben sich nicht etabliert.

Die genannten Instrumente werden im pankreatikobiliären System und im Gastrointestinaltrakt einschließlich des Ösophagus eingesetzt. Die Methoden zur Gewinnung von Material zur zytologischen und histopathologischen Diagnostik sind eingeschränkt effektiv. So reicht die Sensitivität der Bürstenzytologie bei malignen Prozessen im pankreatikobiliären System beispielsweise von 10 bis 90% [11;33;46;54] [2;47;53;55;62;64;75], die entsprechenden Zahlen im Gastrointestinaltrakt liegen bei 40 bis 92 % [4;9;19;19;25;26;31;33;33;35;42;59;61;67;68;78]. Die Zangenbiopsie ist eine zeitaufwendige Methode - jeder entnommene Partikel muß über die gesamte Endoskoplänge einzeln nach extrakorporal transportiert werden. Die Weiterentwicklung der Methoden zur endoskopischen Materialgewinnung erscheint unter den Aspekten Zeitgewinn und Verbesserung der Materialausbeute wünschenswert.

3. Problemstellung

Ziel der Arbeit ist es zum einen, die endoskopische Materialentnahme zu beschleunigen. Hierzu wurde die Technik der Doppel- bzw. Dreifachbiopsie erprobt und mit der Gewebeausbeute der Einfachbiopsie verglichen. Zum anderen sollte durch ein neuartiges Instrument, die Zytospirale, die Effektivität der endoskopischen Materialgewinnung verbessert werden. Zum Nachweis einer größeren Effektivität mußte eine geeignete Methode zur Quantifizierung des gewonnenen Materials gefunden werden. In den bisher veröffentlichten Studien zur vergleichenden Quantifizierung von endoskopisch mit der Zange gewonnenen Biopsien wurden die Partikel entweder gewogen oder ausgemessen [5;13;40;73;80-82]. Angaben zur Quantifizierung endoskopisch gewonnenen Materials beschränken sich auf Angaben wie „ausreichend/nicht ausreichend“, „spärlich/reichlich“ oder „befriedigend/nicht befriedigend“ [3;7;9;18;68;76]. Weil in dieser Arbeit jedoch auch mittels Bürste und mittels des neuen Instrumentes, der Zytospirale, gewonnenes Material, jeweils in Flüssigkeit ausgeschüttelte feinste Gewebeflocken, quantifiziert werden sollte, wurden die konventionellen Quantifizierungsmethoden für nicht adäquat erachtet. Zur Quantifizierung wurde deshalb die Bestimmung des intrazellulären Proteingehalts der Gewebeproben herangezogen.

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen untersucht werden:

1. Führt eine Größenzunahme des Volumens des Zangenlöffels zu einem Zuwachs an Biopsiematerial?
2. Erbringt eine mit einer konventionellen Biopsiezange durchgeführte Doppelbiopsie bzw. Dreifachbiopsie mehr Biopsiematerial als eine entsprechende Einzelbiopsie?
3. Unterscheiden sich unterschiedliche endoskopische Biopsiegeräte - Biopsiezange, Bürste und die neu entwickelte Zytospirale - hinsichtlich der Menge des gewonnenen Biopsiematerials?

4. Theoretische Grundlagen

4.1. Entwicklung der Endoskopie

Die Entwicklung vom starren Endoskop zur Glasfaser- bzw. Videoendoskopie lässt sich in drei Abschnitte unterteilen [16]. Die Ära des starren Endoskops begann zwischen 1803 und 1808 mit der Erfindung des „Lichtleiters“ (Abb. 2) durch Philipp Bozzini, 1773 - 1809 [36];[58].

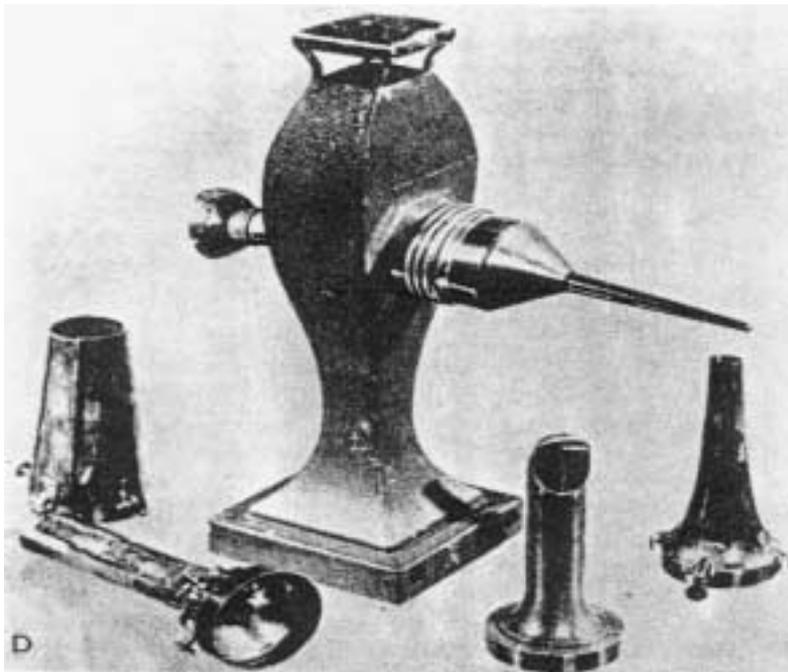


Abb. 2: Der 1805 von Philipp Bozzini als „erstes Endoskop“ entwickelte Lichtleiter [58]

Die Einführung der Gastroskopie erfolgte 1868 durch Adolf Kussmaul, der auf einem Treffen der medizinischen Abteilung der Naturalisten von Freiburg an einem Schwertschlucker die Technik des Einführens eines starren Gastroskops in den Magen demonstrierte (Abb. 3a und b).

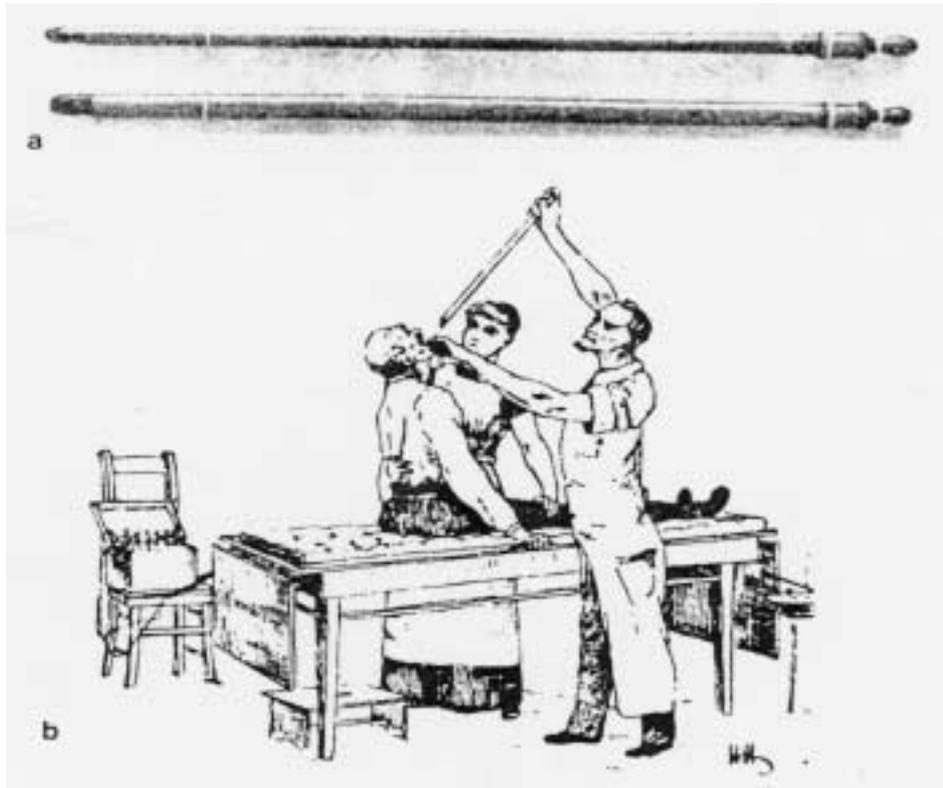


Abb. 3a und b : Kussmaul`s Gastroskop (a) [28], und die am Patienten demonstrierte Anwendung (b) [63]

1890 begann Leiter mit Johann von Mikulicz (1830 - 1892) zusammenzuarbeiten. Hieraus entstand, ähnlich dem Cystoskop, ein Gastroskop mit einer eingebauter Lichtquelle am proximalen Ende und einem Winkel von 30° am distalen Drittel. Erfolgreicher als dieses Gerät war das von Mikulicz entworfene Ösophagoskop mit weißglühendem elektrischem Licht, 1879 von Edison erfunden. Der Ersatz des Platindrahts durch Edisons Weißlichtglühbirne machte Mikulicz` Konstruktion zum ersten wirklich gebrauchsfähigen Ösophagoskop [22],[34].

Bis zu diesem Zeitpunkt war die Endoskopie ein potentiell sehr lebensbedrohliches Unterfangen. Schindler leitete die zweite Ära der Endoskopie ein, die aufgrund seiner Verdienste auch „Schindler Ära“ (1932 – 1957) genannt wird. 1932 entwickelte er in Zusammenarbeit mit dem Gerätehersteller Georg Wolf das erste semiflexible Gastroskop aus einer von einem Gummimantel umgebenen Bronzespirale mit einem optischen System aus

mehreren Linsen mit kurzem Fokusabstand. Das Instrument konnte in mehreren Ebenen bis zu 34° ohne Bildverzerrung gebogen werden (Abb. 4a und b) [14].



Abb. 4a und b: Das semisflexible Gastroskop von Wolf-Schindler, 1932 (77)

Bis zum Sommer 1933 waren in München 50 Ärzte aus Europa und Nordamerika in der technischen Benutzung dieses Gastroskops unter Rudolf Schindler ausgebildet worden. Nach Schindlers Immigration 1934 in die Vereinigten Staaten wurde Chicago zur Hochburg der Gastroskopie, welche von nun an eine breite Anwendung erfuhr. Es war nun auch möglich, Ösophagoskopie und Gastroskopie in einem Untersuchungsgang durchzuführen. Weitere Neuerungen bestanden in der gastroskopischen Farbphotographie und der Entwicklung von Arbeits- bzw. Biopsieendoskopen. 1940 hatte Bruce Kenamore eine Biopsiezange für Schindlers semiflexibles Gastroskop entworfen, die auf den Schaft des Endoskops aufgestzt werden konnte (Abb. 5a und b).

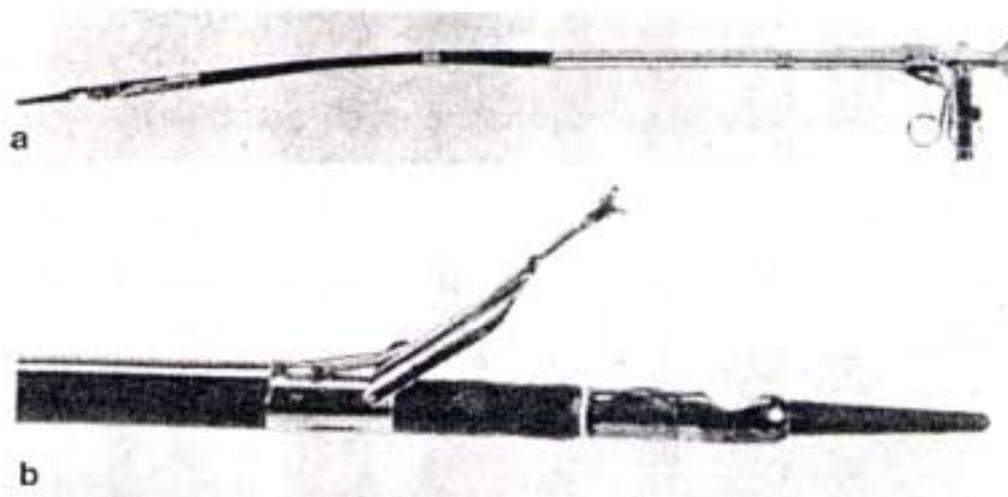


Abb. 5a und b: Kenamore`s aufsetzbare Biopsiezange [63]

1948 führte Edward B. Benedict ein Arbeitsendoskop mit eingebauter Biopsiezange und eingebauter Saugvorrichtung ein (Abb. 6).



Abb. 6: Benedict`s Arbeits- bzw. Biopsiegastroskop, 1948 [1]

Die endoskopische Biopsie war möglich geworden; sie wurde von manchen sogar als unverzichtbarer Bestandteil jeder Routineuntersuchung bezeichnet [65].

Der dritte Abschnitt, die Ära der fiberoptischen Endoskopie wurde 1870 mit der Beobachtung von John Tyndall eingeleitet, daß Licht dem Weg eines fließenden und auch gekrümmten Wasserstroms folgt [28]. Diese Beobachtung führte schließlich zum vollflexiblen Fiberglasendoskop mit dem 1957 Basil Hirschowitz zunächst sich selbst und wenig später den ersten Patienten endoskopierte. Entscheidende Vorteile lagen in der Flexibilität des Gerätes, der besseren Lichtleitung, insbesondere für die Photographie, und im verbesserten Überblick bis hin zum Duodenum [28].

Durch die Einführung einer steuerbaren Spitze wurde das Glasfiberendoskop den konventionellen semiflexiblen Gastroskopen eindeutig überlegen. Ein weiterer wichtiger, durch die Glasfiberendoskopie ermöglichter Schritt ist die endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP). 1965 gelang Rabinov und Simon die perorale Kanulierung der Papilla vateri [57], erweitert durch die Papillotomie durch M. Classen [15;38].

Mit der Entwicklung der Glasfiberendoskope kam auch die Koloskopie entscheidend voran. 1965 gelang Luciano Provenzale und Antonio Revignas in Sardinien die erste totale Koloskopie [30]. Durch die verbesserten Koloskope konnten William I. Wolff und Hiromi Shinya 1971 Kolonpolypen mit einer Drahtschlinge entfernen, eine Methode, die inzwischen zum Standard endoskopischer Therapie gehört [79].

Die fortschreitende Entwicklung ersetzte schließlich Linsen und Glasfiberbündel der Endoskope durch einen elektronischen Sensor an der Gerätespitze. Das Bild wird an einen Videoprozessor weitergeleitet und auf einem Monitor sichtbar [52]. 1983 wurde das erste Videoendoskop von Welch Allyn auf den Markt gebracht, einer Firma, die in den folgenden Jahren vollständig von japanischen Gesellschaften verdrängt wurde [16].

Heute sind die Videoendoskope weitgehend Standard und haben ihre Vorläufer, die Glasfiberendoskope, nahezu ersetzt.

4.2. Die endoskopische Biopsie

Mit der Möglichkeit zur endoskopischen Entnahme von Gewebe und dessen Weiterverarbeitung durch den Histopathologen stellt die endoskopische Biopsie einen wesentlichen diagnostischen und therapeutischen Faktor dar. 1965 wurden von Ottenjann und Demling die „blinde“ Saugbiopsie und die gezielte endoskopisch kontrollierte Biopsie unterschieden. Erstere hatte ihre Indikation bei diffusen entzündlichen Veränderungen der Magenschleimhaut und war 1948 von dem Schweden Tomenius [73] bzw. 1949 von dem Australier Wood [82] eingeführt worden. In Bezugnahme auf einen Artikel aus dem Jahre 1965 von Ottenjann und Demling [50] begann die Entwicklung der gezielten endoskopischen Biopsie bereits 1907 mit der Entnahme von Magenschleimhaut während einer Gastroskopie durch Chevalier Jackson. Aus der in dem Artikel zitierten Literaturstelle, Jackson, Ch.: J.Amer. med. Ass. 49 (1907) 1425, geht dies jedoch nicht explizit hervor.

Zur Verifizierung endoskopischer Befunde bedarf es zytologischer und histopathologischer Methoden. Einfluß auf die Gewebepartikelgröße nehmen u.a. Größe und Ausführung des Zangenmauls, das Vorhandensein eines zentralen Dorns, korrekte Bedienung der Zange und korrekte Entnahmetechnik. Wichtig für die diagnostische Aussagekraft einer Biopsie des Gastrointestinaltraktes sind auch der Erhaltungszustand des Biopsiepartikels sowie die histologisch-technische Bearbeitung im Labor. Auch ein technisch intaktes Biopsieinstrument ist von Bedeutung. Unabhängig von Größe und Erhaltungszustand des Biopsiepartikels können andere Faktoren die Beurteilung der Biopsie ungünstig beeinflussen, wie z.B. anatomische Gegebenheiten der Entnahmestelle. Läßt diese, wie im Ösophagus, nur einen ungünstigen tangentialen Ansatzwinkel der Biopsiezange zu, resultiert eine oberflächliche, lediglich Plattenepithel ohne Bindegewebe der Lamina propria enthaltende Biopsie. Auch kann sich die Beschaffenheit des biopsierten Gewebes, Strukturveränderungen wie Konsistenzzunahme oder Schleimhautverfestigungen nach abgelaufenen pathologischen Veränderungen negativ auf die Quantität und Qualität der gewonnenen Biopsie auswirken [44].

4.3. Techniken der endoskopischen Biopsie

Zur Optimierung der Quantität und Qualität einer endoskopischen Biopsie wurden verschiedene Techniken erprobt. 1972 setzte Kuramata eine Diathermieschlinge ein, um mehr Gewebe zu erhalten [39]. 1980 versuchte Shimamoto, durch Nadelbiopsien tiefere Schichten zu erreichen [66].

Bei der endoskopischen Zytologiegewinnung, beschrieben durch K. Bhasin, wird ein Polyvinylkatheter auf das entsprechende Areal aufgesetzt und für mehrere Sekunden ein Sog mittels einer Spritze über den Katheter ausgeübt. Dabei soll der Katheter bewegt werden, um Material aus einem möglichst großen Areal zu gewinnen [6].

Die sogenannte „turn-and-suction“-Biopsie wird durchgeführt, indem man die Biopsiezange wie üblich aus dem Endoskop schiebt und öffnet, nun allerdings zurückzieht, bis sie in einer Ebene mit der Endoskopspitze steht. Jetzt wird das Endoskop vorsichtig auf die Darmwand hin gedreht, Luft aus dem Lumen angesaugt, und die Biopsiezange minimal nach vorne geschoben und geschlossen, normalerweise ohne direkte Sicht. Nach Begradigung des Endoskops kann die Biopsiezange samt Biopsie aus dem Gerätekanal entfernt werden [43].

Bei der „strip biopsy“ werden unter die zu biopsierende Läsion 2-3 ml physiologischer Kochsalzlösung endoskopisch injiziert, wodurch sich die Läsion von den tieferen Wandschichten abhebt. In Anlehnung an Kuramata wird anschließend mit einer Schlinge das abgehobene Gewebe diathermisch entfernt. Auf diese Weise können auch Läsionen unterhalb des Niveaus der angrenzenden Schleimhaut reseziert werden [37]; [49].

Andere japanische Autoren verwenden gleichzeitig zwei Endoskope. Ein Seitblickendoskop wird durch eine Schlinge eingeführt, die aus einem parallel eingeführten Endoskop mit Geradeausblick-Optik ausgefahren wird. Dann wird durch das Seitblickendoskop physiologische Kochsalzlösung unter die zu biopsierende Läsion gespritzt, welche sich daraufhin abhebt. Die Läsion wird mit einer durch das Seitblickendoskop eingeführten Zange gefasst und angehoben. Anschliessend wird die Läsion mit der Polypektomieschlinge, die durch das prograde Endoskop eingeführt wurde, abgetragen. [70].

4.4. Instrumente zur Gewinnung von Gewebe im Gastrointestinaltrakt und im pankreatikobiliären System

Neben der konventionellen Biopsiezange und der endoskopischen Bürste wurden in den vergangenen Jahren weitere endoskopische Instrumente zur Gewebeentnahme im Gastrointestinaltrakt einschließlich des pankreatikobiliären Systems entwickelt, von denen im folgenden einige vorgestellt werden.

Bei der sogenannten „hot biopsy forceps“ wurde das Prinzip der monopolaren Elektrokoagulation und der herkömmlichen Entnahme von Gewebe mit der Biopsiezange kombiniert, um gleichzeitig Gewebe zu gewinnen und die zurückbleibende Entnahmestelle elektrisch zu koagulieren. Die Zangenbranchen haben abgestumpfte Ränder, um Gewebe zu fassen, aber nicht zu zerschneiden. Über einen isolierten Katheterschaft wird elektrische Energie auf die Branchen übertragen. Bei der Abtragung kleinerer Polypen soll so neoplastisches Gewebe zerstört und eine Blutstillung erreicht werden [23].

Ein einfaches Instrument zur Entnahme von Material für die Zytologie im Ösophagus besteht aus einem einlumigen flexiblen Plastikröhrchen, das über eine Länge von 16 cm von einem Baumwollnetz umgeben ist. Das Rohr wird in den Ösophagus eingeführt und mit einem durch das Lumen laufenden Faden, der am distalen Ende der Röhre befestigt ist, durch Zug am proximalen Fadenende zu einer Schlinge geformt. Diese wird durch den Ösophagus nach oral gezogen und extrahiert. Das am Baumwollnetz haftende zytologische Material wird für Ausstriche verwendet. (Abb. 7), [56].

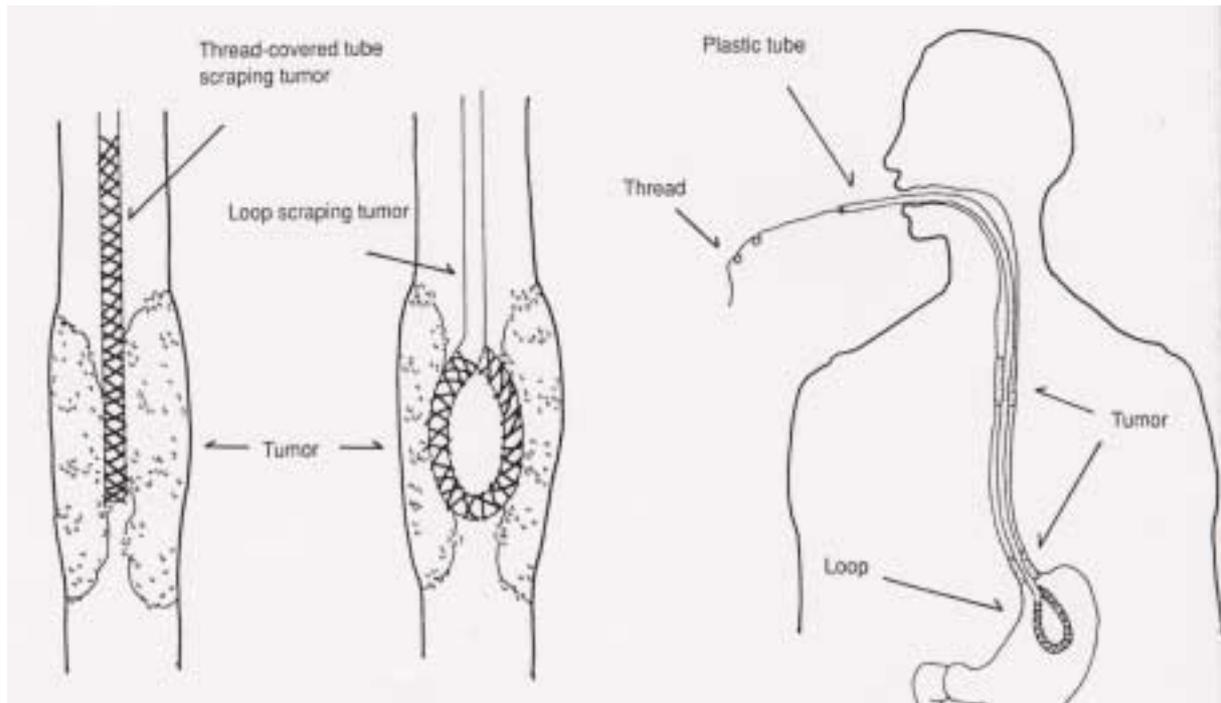


Abb. 7: Elastisches Plastikröhrchen zur Gewebebegewinnung im Ösophagus [56]

Vor allem in China existieren andere Instrumente, die ebenfalls ohne Endoskop zu Screeninguntersuchungen eingesetzt werden; Schwämme in einer Gelatinekapsel entfalten sich nach Schlucken und Auflösen der Gelatinekapsel und werden dann mit einem Faden durch den Ösophagus gezogen [60]. Aufblasbare Ballons mit einer netzartigen (26) und andere mit einer stacheligen Oberfläche [60;72] und solche, die vollständig mit einem Baumwollnetz überzogen sind [7;17], wurden für die Gewinnung von zytologischem Material vorgestellt (Abb. 8).

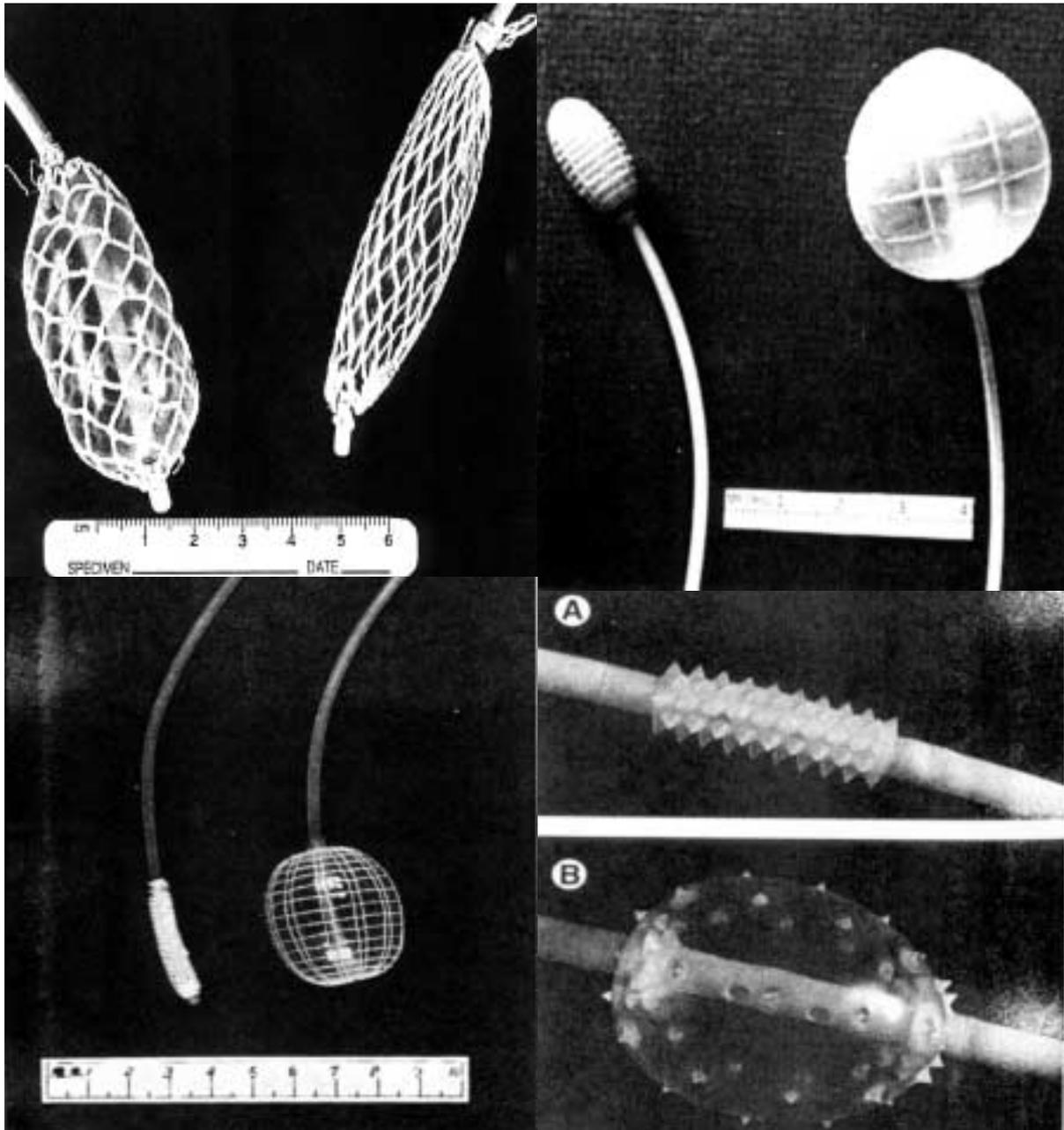


Abb. 8: Verschiedene aufblasbare Plastikballons zur Gewinnung von zytologischem Material im Ösophagus: links oben ein Ballon mit Baumwollnetz überzogen, rechts oben und links unten ein Ballon mit einer netzartigen Oberfläche und rechts unten ein mit Plastikstacheln versehener Ballon [17;24;60]

Eine anderes endoskopisch einsetzbares Instrument besteht aus einem ovalen Metallgitter ähnlich einem Ballon, das in einen Katheter zurückgezogen, in den Arbeitskanal eines Endoskops eingeführt und im Gastrointestinaltrakt wieder entfaltet werden kann, um dort durch Entlangstreifen an der Mucosa Material für Abstriche zu erhalten [10].

Bei einer Weiterentwicklung der endoskopisch einsetzbaren Bürste wurde an der Spitze der Bürste ein Dilatator angebracht und die semistarren Borsten mit einem nichttoxischen Klebstoff versehen. Die Bürste kann in einen Schaft zurückgezogen werden, um das gewonnene Material vor Verlust im Gerätekanal zu schützen [50].

Zur Gewebegewinnung während der ERCP wurde ein doppelumiger Katheter vorgestellt, mit einem Kanal für einen Führungsdraht und einem zweiten Kanal mit einem Abgang in einem Winkel von 45° als Biopsiekanal. Durch den zweiten Kanal können Zangen, Bürsten oder Nadeln zur Gewebegewinnung eingeführt werden [29].

5. Material und Methoden

5.1. Die Zytospirale

Die Zytospirale wurde als neue Alternative zu den bisherigen endoskopisch einsetzbaren Instrumenten zur Gewinnung von zytologischem und histologischem Gewebematerial mit dem Ziel entwickelt, die erhaltene Gewebeausbeute zu vergrößern. Eingesetzt werden kann die Zytospirale bei endoskopischen Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes und des pankreatikobiliären Systems. Besonders geeignet ist sie für Stenosen, die mit dem Endoskop oder anderen Biopsiegeräten nicht passierbar sind.

Die Zytospirale besteht aus einer flachen Metallspirale mit ca. 20 Windungen, die am distalen Ende konisch zuläuft. Die breite Seite des Metallbandes liegt in Längsrichtung der Spirale. Die Länge der Metallspirale beträgt 36 mm bei einem Durchmesser von 2,2 mm. Die Metallspirale ist auf einem Kunststoffkatheter befestigt. Das Instrument wird über den Arbeitskanal in das Endoskop eingeführt. Durch das Lumen von Katheter und Zytospirale kann ein Führungsdraht geschoben werden. So kann bei irregulären Stenosen die Zytospirale entlang eines zuvor placierten Führungsdrahtes eingeführt werden (Abb. 9).



Abb. 9: Die Zytospirale im Darmlumen während einer endoskopischen Untersuchung am Endoskopiesimulator

5.2. Gewebematerial

5.2.1. Gewebeproben von Schweinen

In der ersten Versuchsreihe wurden insgesamt 400 Proben aus dem explantierten Kolon von Schweinen, die nach vorausgegangenen von dieser Arbeit unabhängigen Experimenten getötet worden waren, endoskopisch entnommen. Die Kolonabschnitte waren dazu an einem Endoskopiesimulator befestigt. Es wurden Kolonsegmente von drei verschiedenen Schweinen verwendet. Maximal 30 Minuten nach Entnahme des Kolonabschnitts aus dem soeben getöteten Schwein wurde mit der Probengewinnung begonnen. Das entnommene Kolonsegment wurde jeweils mit Wasser gereinigt, am einen Ende mit Nahtmaterial verschlossen und mit dem anderen Ende an einem Endoskopiesimulator angebracht.

5.2.2. Biopsien von Patienten

In einer zweiten und dritten Versuchsreihe wurden insgesamt 330 Biopsien bearbeitet. Diese wurden während endoskopischer Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes von insgesamt 100 verschiedenen Patienten mit gültiger Einverständniserklärung entnommen. 33 % der Biopsien erfolgten im Magenantrum bzw. -corpus, 4 % im Duodenum, 14 % im Colon ascendens, transversum und descendens, 12 % im Sigma und 37 % im Rektum (Abb. 10).

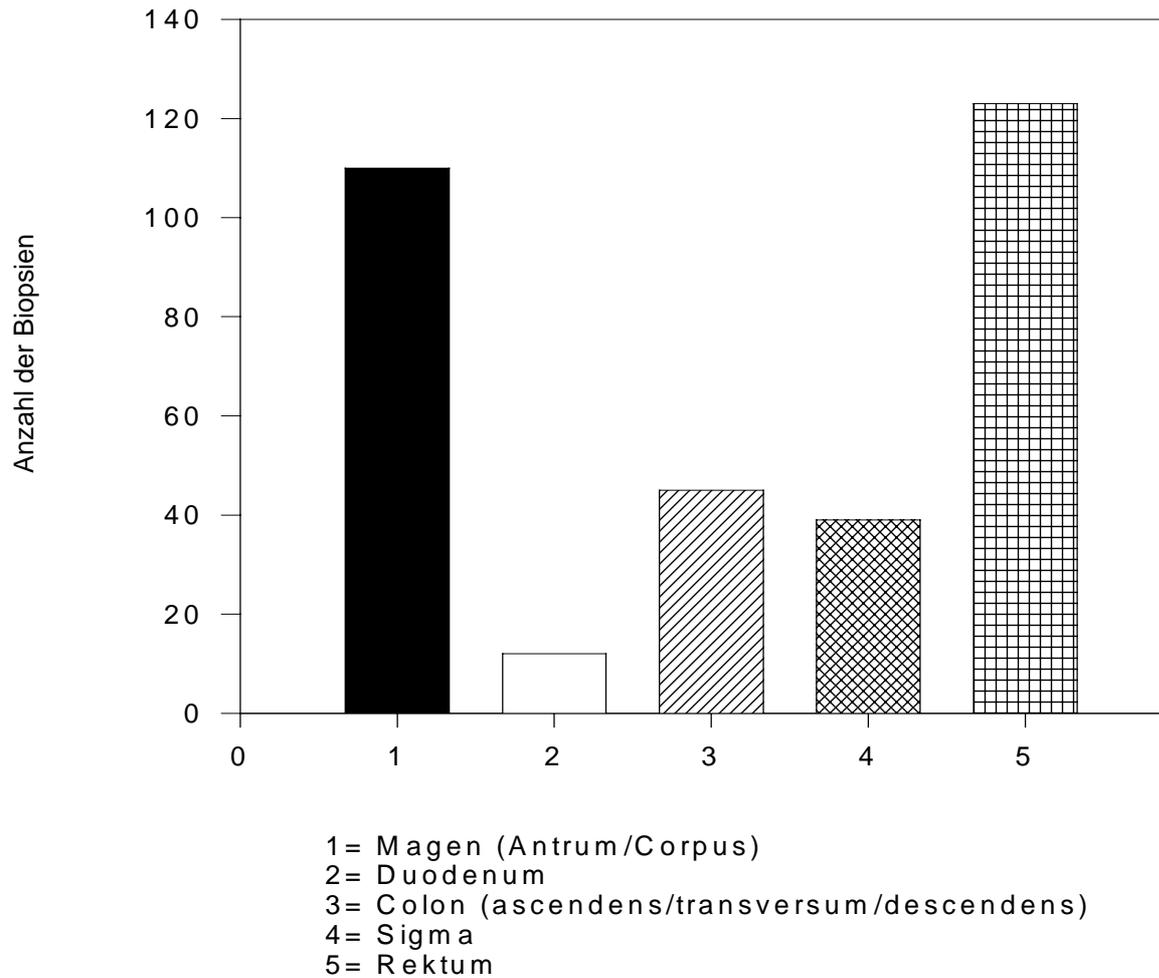


Abb. 10: Verteilung der Biopsien im Gastrointestinaltrakt (n=330)

Eingeschlossen in die Studie wurden konsekutiv alle Patienten, bei denen im Rahmen der Untersuchung endoskopische Biopsien erforderlich waren.

Das durchschnittliche Patientenalter betrug 53,2 Jahre \pm 15,6 Jahren. 62 % der Patienten waren Frauen und 38 % Männer.

5.3. Indikationen für die durchgeführten Endoskopien

Indikationen zur Gastro- bzw. Koloskopie waren bei 18 Patienten eine Primärtumorsuche, die Abklärung von Diarrhoe bei 13 Patienten, unklare abdominelle Beschwerden bei 18 Patienten, Obstipation bei 6 Patienten und bei 7 Patienten die Suche nach einer Blutungsquelle bei Z.n. perianalem Blutabgang bzw. bei positivem Haemoccult-Test. Kontrollen bei bekanntem Morbus Crohn erfolgten neunmal, bei Colitis ulcerosa fünfmal. Weitere Indikationen waren die Kontrolle eines Ulcus ventriculi, Divertikulitis, Fokussuche bei Z.n. Sepsis, Fokussuche bei bekanntem Leberabszeß, Z.n. mehrfacher Bolusimpaktation, unklare Fieberschübe und Dysphagie.

Elfmal erfolgte eine Polypektomie bzw. Kontrolle nach Polypektomie. Die restlichen Indikationen verteilten sich auf 2 Fälle von Dyphagie, 3 Fälle von Gastritis und 2 Fälle von gastroösophagealer Refluxkrankheit. Je eine Ösophagus- und eine Sigmastenose wurden kontrolliert, sowie einmal eine Sprue ausgeschlossen und einmal ein Ulcus an der rechten Flexur kontrolliert.

5.4. Der Endoskopiesimulator

Zur Simulation der endoskopischen Untersuchung und Biopsieentnahme am Tiermodell wurde ein Endoskopiesimulator verwendet. Er besteht aus zwei senkrecht zueinander stehenden Kunststoffplatten. Durch eine Öffnung der senkrecht ausgerichteten Platte ist ein Metallstutzen geführt, auf den das Darmsegment aufgeschoben und danach an ihm befestigt werden kann. Die andere Seite des Stutzens hat eine Abschlußscheibe mit mehreren Öffnungen. Hier können eine Optik, eine Saug-/Drucklufteinrichtung und endoskopische Instrumente eingeführt werden. Wird nun das an dem Stutzen angebrachte Darmsegment an seinem freien Ende luftdicht verschlossen, entsteht ein endoskopierbares Hohlorgan, das über die Optik per Videobildschirm eingesehen und über die Saug-/Drucklufteinrichtung, ähnlich wie bei der realen Endoskopie, reguliert werden kann. Über die Gerätekanalöffnungen können endoskopische Gewebeentnahmen vorgenommen und die Proben geborgen werden (Abb. 11, 12 und 13).



Abb. 11, 12 und 13: Der Endoskopiesimulator (oben); Schweinecolon vor (unten links) und nach (unten rechts) Luftinsufflation

5.5. Techniken der Probenentnahme

Alle Zangenbiopsien während der endoskopischen Untersuchungen der Patienten wurden von erfahrenen Endoskopikern durchgeführt. Die übrigen endoskopischen Gewebeentnahmen am Endoskopiesimulator erfolgten durch den Autor der vorliegenden Dissertation.

5.5.1. Techniken der Gewebeentnahme mit der Biopsiezange

Bei der endoskopischen Gewebeentnahme kamen verschiedene Techniken zum Einsatz. Mit den Biopsiezangen wurden entweder einzelne konventionelle Probeentnahmen durchgeführt, d.h. die Zange wurde an der ausgewählten Stelle im Hohlorgan in üblicher Weise geöffnet auf die Mucosa aufgesetzt; die Biopsie wurde durch Schließen der aufgedrückten Zange entnommen. Alternativ wurde eine neue, zeitsparende Methode der Biopsie, die Doppelbiopsie (double bite) angewendet. In einer dritten Versuchsreihe wurde eine Dreifachbiopsie (triple bite) vorgenommen. Bei diesen neuen Methoden wird zwei- bzw. dreimal hintereinander auf herkömmliche Art und Weise Gewebe an verschiedenen Stellen gewonnen, ohne jedoch die Zange zwischen den Biopsien aus dem endoskopischen Gerätekanal zu entfernen und ohne die erhaltenen Proben einzeln zu sammeln. Die Zange wird also eingeführt, unter Sicht zwei- bzw. dreimal geöffnet und geschlossen, um die Gewebeprobe zu gewinnen; dann wird die Zange extrahiert und die Gewebeprobe wird im Probengläschen deponiert.

5.5.2. Technik der Gewebeentnahme mit der endoskopischen Bürste

Die Gewebeentnahme mit der Endoskopiebürste erfolgte durch Placieren der Bürste an der entsprechenden Stelle im Gastrointestinaltrakt und anschließendes Vor- und Zurückziehen. Bei einem Probeentnahmevergange wurde die Bürste insgesamt dreimal an der zu untersuchenden Stelle vor- und zurückgezogen.

5.5.3. Technik der Gewebeentnahme mit der Zytospirale

Mit der Zytospirale wurde Gewebe gewonnen, indem nach dem Placieren der Spirale an der zu untersuchenden Stelle durch Anschluß an die Saug-/Drucklufteinrichtung ein Sog angelegt wurde, der Gewebe zwischen die Spiralwindungen der Zytospirale einsaugte (Abb.14 und 15).



Abb. 14: Endoskopische Sicht nach Anlegen eines Sogs an die im Schweinecolon placierte Zytospirale



Abb. 15: Sicht von außen auf die im Schweinecolon placierte Zytspirale nach Anlegen des Sogs

Beim Zurückziehen der Zytspirale wurde das zwischen die Spiralwindungen eingesaugte Gewebe abgeschert. Die Zytspirale wurde danach extrahiert und in einem Transportmedium ausgeschüttelt oder ausgeblasen.

5.6. Quantifizierung der Gewebeproben

5.6.1. Materialverarbeitung

Die Instrumente zur endoskopischen Probeentnahme wurden nach Extraktion aus dem Gerätekanal im Transportmedium ausgeschüttelt, bis sie makroskopisch frei von Geweberesten waren. Beim Ausschütteln der Zytospirale wurde zusätzlich Luft insuffliert, um das Gewebe vollständig aus den Spiralwindungen zu entfernen und einen möglichen Materialverlust zu minimieren.

Als Transportmedium diente eine spezielle Lösung, CytoLyt Solution (Cytoc Corp, Boxborough, MA). Dieses Medium lysiert Blut und Schleim und entfernt extrazelluläres Protein. Somit war gewährleistet, daß Verunreinigungen mit Blut und Schleim nicht zu falsch hohen Werten bei der Proteinanalyse führten [8;12;21;27;32].

In jeweils 30 ml dieser Flüssigkeit wurden die Gewebeproben 2 Minuten mittels eines Vortexers durchmischt und anschließend 10 min mit 600 g zentrifugiert, der Überstand daraufhin abgegossen bzw. abpipettiert. War hiernach das erhaltene Zellpellet makroskopisch nicht frei von Blutrückständen, wurden erneut 30 ml der oben genannten Lösung hinzugefügt und der eben geschilderte Schritt wiederholt.

Mit der Biopsiezange gewonnene Proben wurden mit flüssigem Stickstoff tiefgefroren und in einem 2 ml-Eppendorfgesäß mit einem Mikropistell mechanisch homogenisiert.

Das so erhaltenen Homogenisat bzw. das, wie oben beschrieben, zentrifugierte Zellpellet wurde dann mit einem Detergenz, das mit dem unten angeführten Proteinassay kompatibel ist, resuspendiert, um die Zellen zu lysieren und so das intrazelluläre Protein freizusetzen. Hierzu kam 1 ml aus einem Gemisch aus 0,5%igem Triton X-100, 0,9%igem NaCl und 0,1 millimolarer EDTA zum Einsatz.

Diese Suspension wurde dann wiederum 2 min mit einem Vortexer gemischt und mit 600 g zentrifugiert.

5.6.2. Quantitative Proteinbestimmung

5.6.2.1. Prinzip des Proteinassay

Aus dem in der Materialverarbeitung gewonnenen Überstand wurde anschließend der intrazelluläre Proteingehalt quantitativ bestimmt. Dies erfolgte nach oben aufgeführter Resuspension durch kolorimetrische Bestimmung der Proteinkonzentration. Die hierzu verwendete Reaktion ist ähnlich dem gut dokumentierten Lowry Assays [48], weist jedoch zwei wesentliche Verbesserungen auf. Zum einen erreicht die Reaktion 90 % ihrer maximalen Farbentwicklung bereits nach 15 Minuten, zum anderen verändert sich die Farbe nicht mehr als 5 % in einer und nicht mehr als 10 % in zwei Stunden nach Hinzufügen der Reagenzien.

Der Assay basiert auf einer Reaktion von Protein mit einer alkalischen Kupfertartratlösung und Folin als Reagenz. Wie bei dem Lowry Assay führen zwei Schritte zur Farbentwicklung: die Reaktion zwischen Protein und Kupfer in einem alkalischen Medium und die nachfolgende Reduktion des Folinreagenz durch das mit Kupfer behandelte Protein. Die Farbentwicklung ist vornehmlich durch die Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan bedingt und zu einem geringeren Anteil durch Cystin, Cystein und Histidin. Proteine bewirken eine Reduktion des Folinreagenz durch den Verlust von 1, 2 oder 3 Sauerstoffatomen, wodurch ein oder mehrere mögliche reduzierte Verbindungen erzeugt werden, welche eine charakteristische blaue Farbe mit einer maximalen Absorption bei 740 nm und einer minimalen Absorption bei 405 nm aufweisen. [51]

5.6.2.2. Durchführung der kolorimetrischen Proteinbestimmung

Vor jeder Proteinbestimmungsreihe wurde eine Korrelationskurve bestehend aus 5 Meßpunkten erstellt. Die hierzu verwendete Standardlösung besteht aus Rinderserumeiweiß. Die 5 Meßpunkte für die Korrelationskurve wurden mit den Konzentrationen 100, 200, 400, 600 und 800 µg/ml ermittelt, womit der Bereich der später zu messenden Proteinkonzentrationen abgedeckt wurde. Sowohl die Meßwerte für die jeweiligen Korrelationskurven, als auch die eigentlichen Meßwerte der bestimmten Proteinmenge wurden jeweils doppelbestimmt.

Mit der Standardlösung wurde genauso verfahren wie mit den zu bestimmenden Proben, d.h. auch sie wurden mit dem oben beschriebenen Detergenz versetzt.

Als erster Schritt wurde vor jeder Messung ein Gemisch aus einer alkalischen Kupfertartratlösung und Natriumdodecylsulfat mit einer Konzentration von 20 µl Natriumdocetylsulfat pro ml Kupfertartratlösung hergestellt. Als nächstes wurden 100 µl der Standardlösung bzw. der Probe in saubere, trockene Reagenzgläser pipettiert, 500 µl des eben angefertigten Gemisches hinzugegeben und mit einem Vortexer vermischt. Dann wurden 4,0 ml gelösten Folinreagenzes hinzupipettiert und unmittelbar mittels Vortexer vermischt. Nach 15 min konnte bei einem Filter von 691 nm die Absorption an einem Photometer abgelesen werden.

5.7. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS durchgeführt. Angewandt wurden der Student-T-Test und die Multivarianzanalyse ANOVA. Ein Ergebnis von p kleiner 0,05 galt als signifikant.

5.8 Verwendete Materialien

- Videogastroskope der Firma Olympus
- Videokoloskope der Firma Olympus
- Biopsiezange FB-24U Olympus mit Dorn
- Biopsiezange FB-24K-1 Olympus mit Dorn
- Biopsiezange FB-24Q-1 Olympus mit Dorn
- Biopsiezange FB-24U Olympus
- Biopsiezange FB-28U Olympus
- Biopsiezange FB-25K Olympus
- Biopsiezange FB-53U-1 Olympus
- Biopsiezange K2416RP Fujinon
- Biopsiezange K2418RP Fujinon
- Biopsiezange langoval, Ewald Bacher Medizintechnik GmbH
- Biopsiezange kurzoval, Ewald Bacher Medizintechnik GmbH
- Biopsiezange rund, Ewald Bacher Medizintechnik GmbH
- Biopsiezange mit Dorn, Ewald Bacher Medizintechnik GmbH
- Multibite-Biopsiezange, Microvasive, Boston, USA
- Endoskopiebürste, Microvasive, Boston, USA
- Zytospirale, Entwicklung PD Dr. Frimberger, Braun Melsungen, Deutschland
- Endoskopiesimulator, Entwicklung Prof. Hubertus Feussner, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München
- Photometer 1101 M Eppendorf, Gerätebau Netheler und Hinz GmbH, Hamburg, Deutschland
- Vortex Genie 2TM, Bender und Hobein AG, Zürich, Schweiz
- Hettich Rotanta/AP Zentrifuge, Tuttlingen, Deutschland
- Magnetrührer Heidolph Typ MR 3000, Heidolph, Deutschland
- Stickstoffbehälter Isotherm, KGW, Deutschland
- Eppendorf Varipipette 4810, Eppendorf-Nether-Hinz GmbH
- Eppendorf Multipipette 4780, Eppendorf-Nether-Hinz GmbH
- 50ml Polypropylene Conical Tubes, Blue Max, Falcon
- 10ml-Röhrchen, greiner labortechnik, Deutschland
- Mikroküvetten, greiner labortechnik, Deutschland
- 2ml-Reaktionsgefäß, Eppendorf-Nether-Hinz GmbH

- Mikropistell, Eppendorf-Nether-Hinz GmbH
- DC Protein Assay, Bio Rad, München Deutschland
- CytoLyt Solution, Cytoc Corporation, Boxborough, MA, USA
- EDTA Titriplex III, E. Merck, Darmstadt, Deutschland
- NaCl, E. Merck, Darmstadt, Deutschland
- Triton X-100, Bio-Rad, München, Deutschland

6. Ergebnisse

Alle Biopsien wurden problemlos und komplikationsfrei durchgeführt. Die Gewebeentnahmen am Endoskopiesimulator waren ebenfalls unproblematisch. Zum Ausschluss von Perforationen des Schweinedarms nach Probenentnahme am Endoskopiesimulator wurde der Darm mit Wasser gefüllt. Es wurden dabei keine Perforationen nachgewiesen.

Die Korrelationskoeffizienten der vor jeder Proteinbestimmungsreihe erstellten Korrelationskurve lagen zwischen 0,990 und 0,996. Anhand dieser Werte läßt sich die hohe Zuverlässigkeit der verwendeten Methode nachweisen. Ein Beispiel hierfür zeigt Abbildung 16.

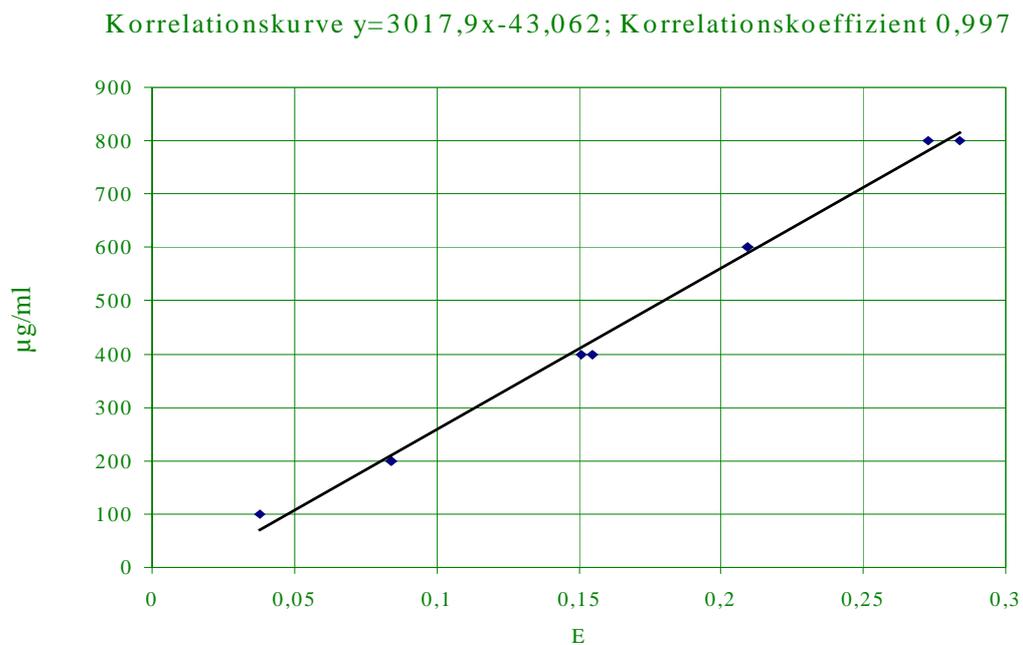


Abb. 16: Beispiel für eine Korrelationskurve der Proteinbestimmungsreihe

6.1. Vergleich dreier Zangen mit unterschiedlichen Branchen bezüglich der Proteinmenge der mit ihnen gewonnenen Biopsien

In der ersten Versuchsreihe wurden drei endoskopische Biopsiezangen (Ewald Bacher, Medizintechnik GmbH) mit unterschiedlichen Branchenformen und –volumina hinsichtlich der Proteinmenge der mit ihnen gewonnenen Biopsien verglichen. Die Zangen unterschieden sich durch die Form des Zangenmauls. Dieses war bei den verschiedenen Zangentypen rund, kurzoval und längsoval mit einem in der gleichen Reihenfolge zunehmenden Innenvolumen. Ziel der Versuchsreihe war es herauszufinden, ob ein größeres Zangenmaul zu einer Zunahme der Größe des Biopsiepartikels führt.

Während 31 endoskopischer Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes war jeweils in randomisierter Reihenfolge in demselben Biopsieareal mit den drei Zangen jeweils eine Gewebeprobe entnommen worden.

48 % (n=15) der Patienten waren weiblich, 52 % (n=16) männlich. Das durchschnittliche Patientenalter betrug 51,3 Jahre \pm 15,3 Jahren.

Die photometrisch bestimmte Proteinmenge der mit der runden Zange gewonnenen Biopsie (n=31) betrug durchschnittlich 290 μ g \pm 105 μ g und die der mit der kurzovalen Maul erhaltenen Biopsie (n=31) 435 μ g \pm 108 μ g. Die durchschnittliche Proteinmenge der mit der langovalen Maul (n=31) biopsierten Probe lag bei 482 μ g \pm 145 μ g (Abb.17).

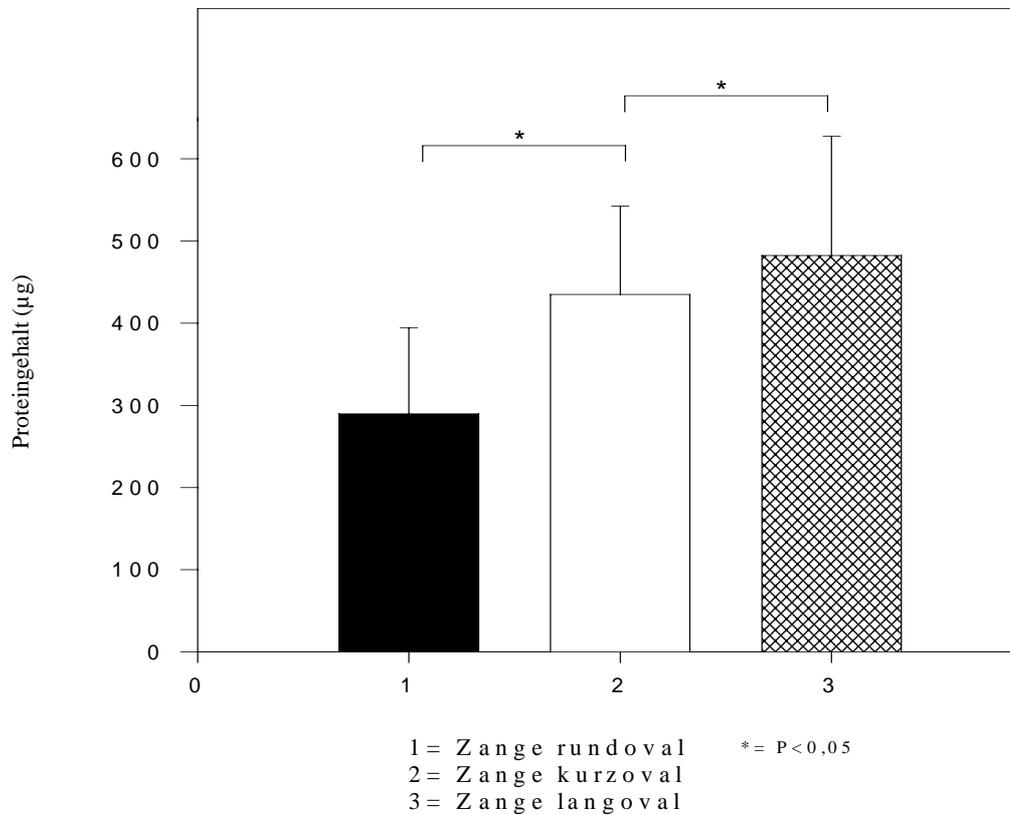


Abb. 17: Proteingehalt der mit unterschiedlich großen Biopsiezangen gewonnenen Biopsien (n=31)

Im Vergleich zum kurzovalen und runden Zangenmaul konnte mit dem langovalen Maul die signifikant größte Proteinmenge erzielt werden. Es wurde eine um 66% größere Gewebemenge als mit dem runden und eine um 11% größere Gewebemenge als mit dem kurzovalen Maul gewonnenen. Dieses Ergebnis zeigt eine direkte Korrelation zwischen dem Maulvolumen der Zange und der Größe des Biopsates. Die beiden Parameter verhalten sich direkt proportional (Abb.18).

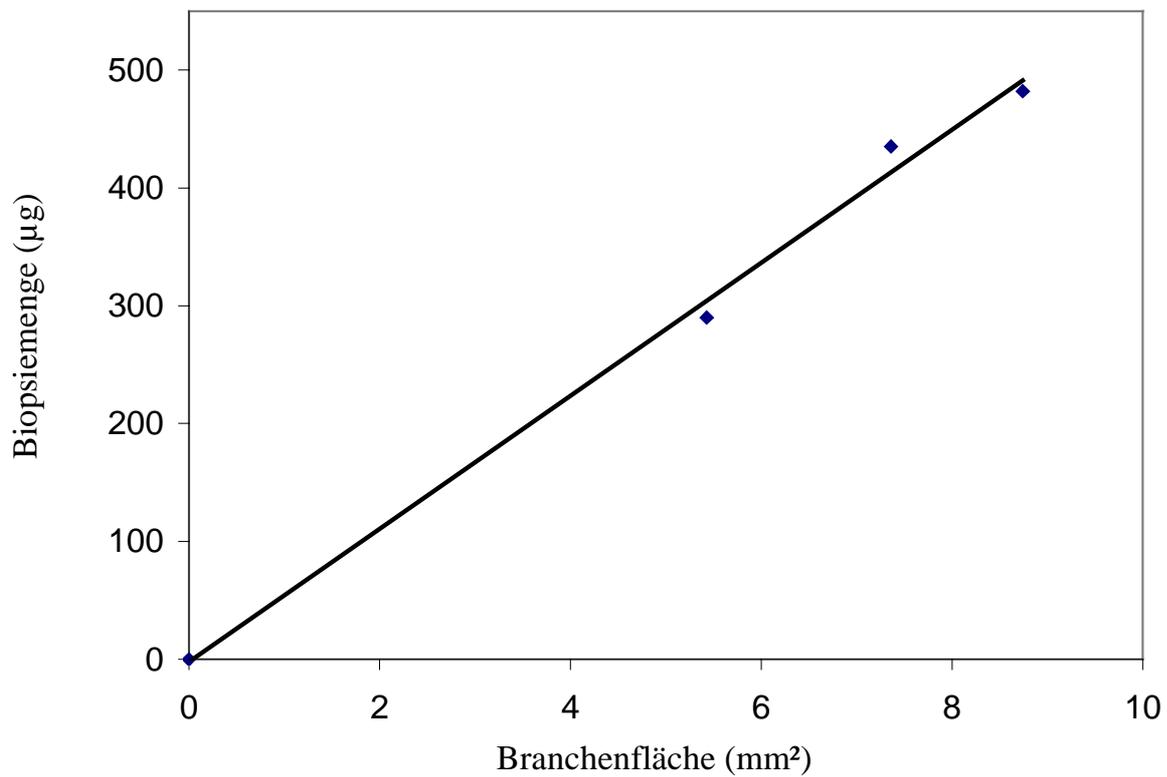


Abb. 18: Korrelation zwischen Branchenfläche und Biopsiemenge

Die Vergrößerung der Maulfläche um 19 %, der Unterschied von der runden zur kurzovalen Zange, resultierte in einem signifikanten Gewebezuwachs von 50 %, die Vergrößerung der Branchenfläche um 61 %, der Unterschied von der kurzovalen zur langovalen Zange, in einer um 66 % signifikant größeren Gewebemenge (Abb. 19). Die Maulfläche wurde aus dem Produkt von Außenlängs- mal Außenquerdurchmesser berechnet, die Tiefe der Zangenbranchen blieb jeweils unverändert.

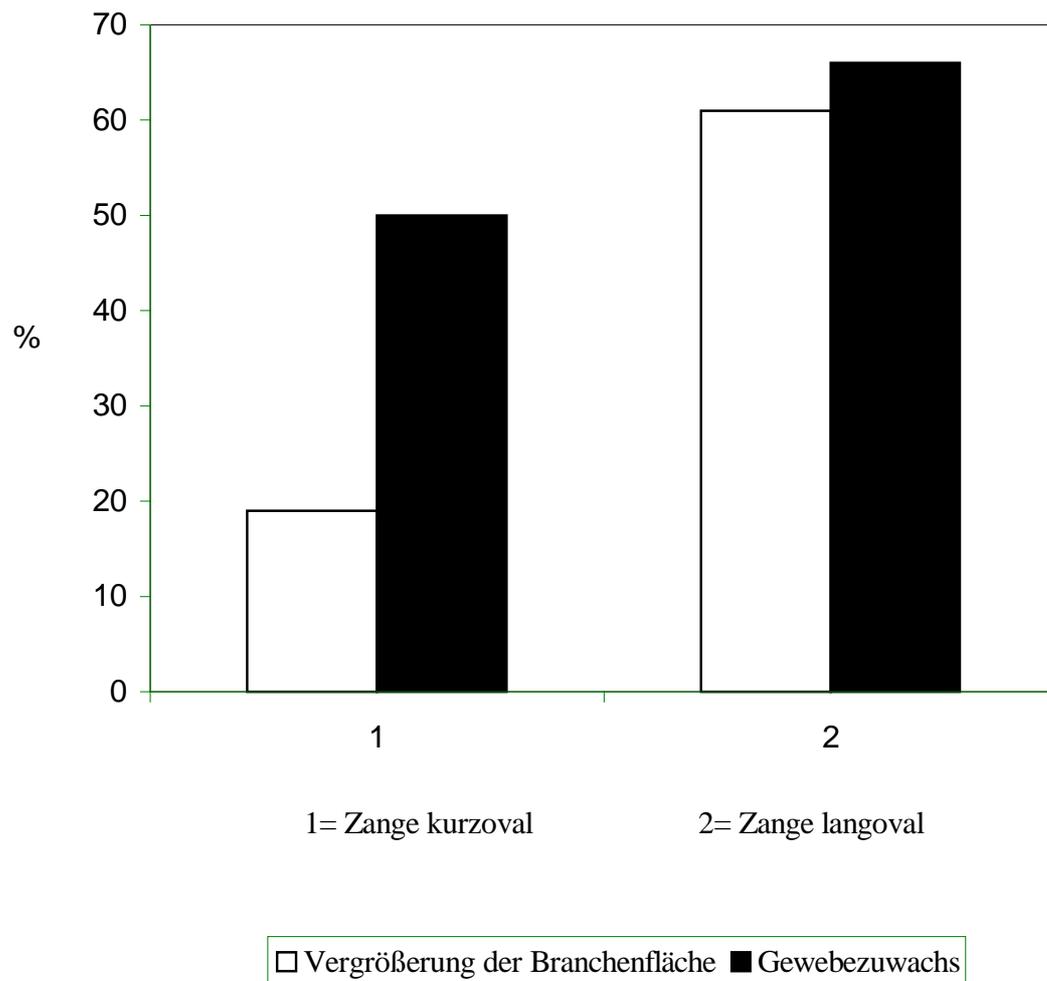


Abb. 19: prozentualer Gewebezuwachs bei Vergrößerung der Maulfläche (bezogen auf eine rundovale Zange mit einem Durchmesser von 2,33 mm)

6.2. Vergleich einer Einfach- mit einer Doppelbiopsie bezüglich der gewonnenen Proteinmenge

In der zweiten Versuchsreihe wurde eine Einfach- mit einer Doppelbiopsie hinsichtlich ihrer Proteinmenge verglichen. Ziel dieser Versuchsreihe war es zu untersuchen, ob mit einer Doppelbiopsie mehr Gewebe als mit einer Einzelbiopsie gewonnen und so Untersuchungszeit eingespart werden kann.

Die eingesetzten Biopsiezangen waren in der endoskopischen Routine verwendete Instrumente.

Während 79 endoskopischer Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes wurden in randomisierter Reihenfolge in demselben Areal jeweils eine Einfach- und eine Doppelbiopsie entnommen.

63 % (n=50) der Patienten waren weiblich, 37 % (n=29) männlich. Das durchschnittliche Patientenalter betrug 54,9 Jahre \pm 16,8 Jahren.

Die photometrisch bestimmte Proteinmenge der Einfachbiopsie (n=79) betrug durchschnittlich 296 μ g \pm 145 μ g. Die photometrisch bestimmte Proteinmenge der durch Doppelbiopsie (n=79) gewonnenen Partikel betrug durchschnittlich 397 μ g \pm 202 μ g (Abb. 20).

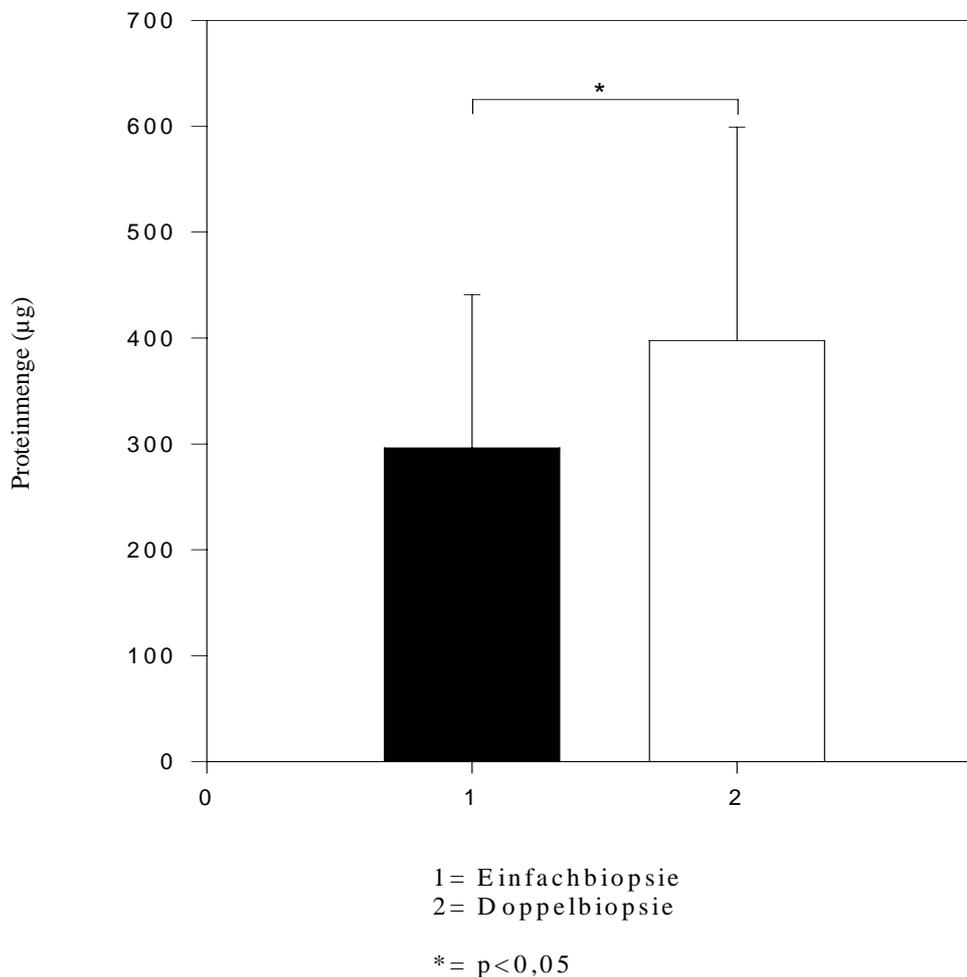


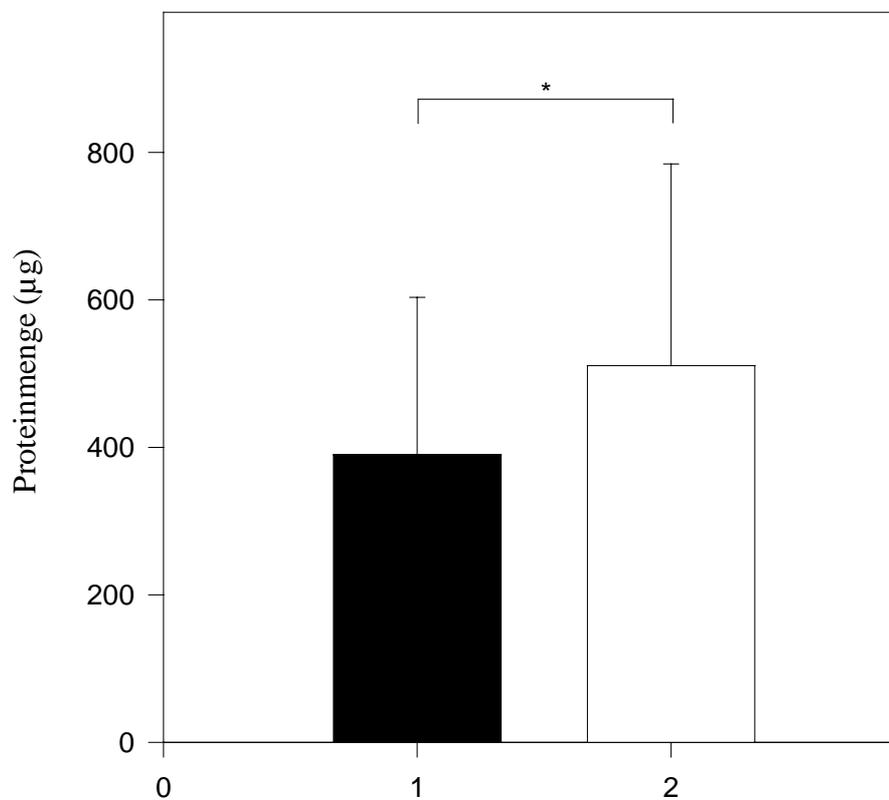
Abb. 20: Einfach- und Doppelbiopsie verglichen bezüglich der durchschnittlich gewonnenen Biopsiemenge (n=79)

Insgesamt wurde mit der Doppelbiopsie ein signifikanter Gewebezunachs von durchschnittlich 34 % im Vergleich zur Einfachbiopsie erreicht.

Doppelbiopsien, die mit Biopsiezangen mit Dorn durchgeführt wurden (n=19), erbrachten in 100 % der Fälle zwei Partikel. Bei den Doppelbiopsien, die mit Biopsiezangen ohne Dorn durchgeführt wurden (n=60), erhielt man in 67% zwei, in den restlichen Fällen einen Partikel. Die höhere Gewebeausbeute bei Verwendung von Zangen mit Dorn läßt sich dadurch erklären, daß bei der Doppelbiopsie beim zweiten Öffnen der Biopsiezange der erste gewonnene Partikel verloren gehen kann und so nur ein Partikel, nämlich des zweiten Teils der Doppelbiopsie geborgen wird. Bei Dornzangen wird der erste Partikel durch den Dorn auch beim zweiten Öffnen der Zange im Zangenmaul gehalten.

Bei allen Einfachbiopsien wurde jeweils ein Partikel erhalten, unabhängig von der Konfiguration des Zangenmauls.

Einfachbiopsien mit Dornzangen (n=19) ergaben eine durchschnittliche Proteinmenge von $390 \mu\text{g} \pm 214 \mu\text{g}$, Doppelbiopsien (n=19) eine durchschnittliche Proteinmenge von $511 \mu\text{g} \pm 273 \mu\text{g}$ (Abb. 21).



1= Einfachbiopsie
2= Doppelbiopsie
*= $p < 0,05$

Abb. 21: Vergleich der durch Einfach- und Doppelbiopsien mit Dornzangen gewonnenen Gewebemenge (n=19)

Die mit Dornzangen erfolgten Doppelbiopsien lieferten immer zwei Partikel und ergaben durchschnittlich 31 % mehr Gewebe als die entsprechenden Einzelbiopsien.

Für die mit Zangen ohne Dorn durchgeführten Einfachbiopsien (n=60) ergab sich eine durchschnittliche Proteinmenge von $267 \mu\text{g} \pm 100 \mu\text{g}$, für die entsprechenden Doppelbiopsien (n=60) eine durchschnittliche Proteinmenge von $362 \mu\text{g} \pm 160 \mu\text{g}$ (Abb. 22).

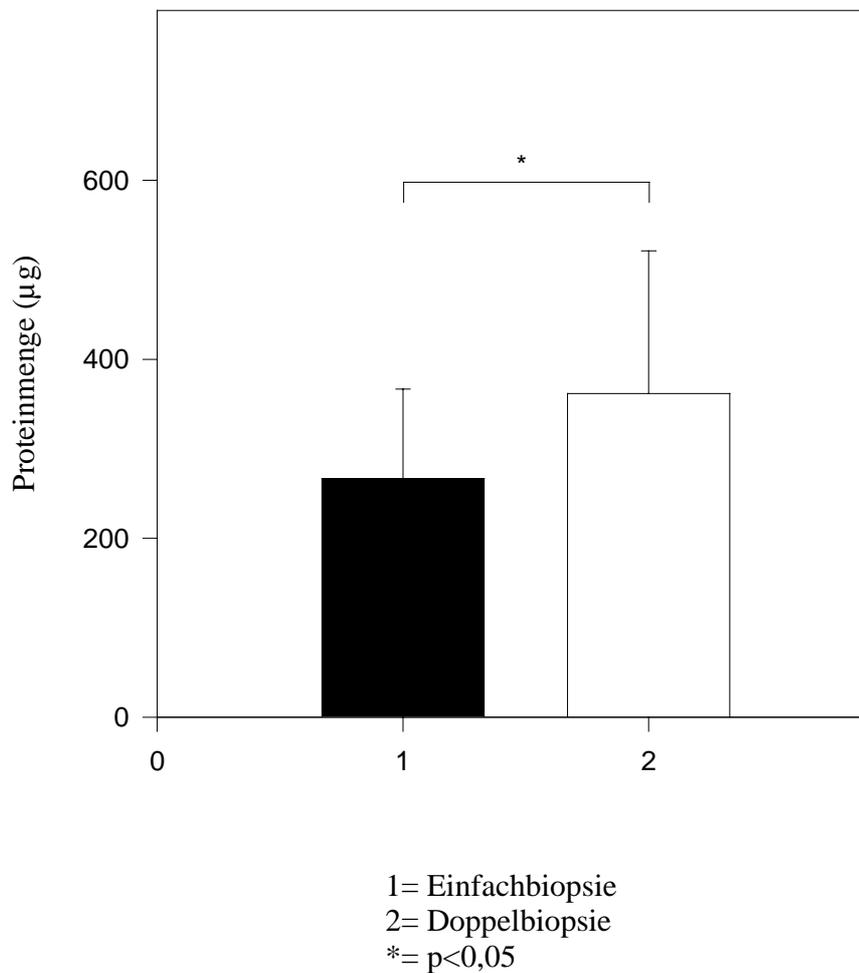


Abb. 22: Vergleich der durch Einfach- und Doppelbiopsien mit Zangen ohne Dorn gewonnenen Gewebemenge (n=60)

Die Doppelbiopsien mit Zangen ohne Dorn erbrachten also durchschnittlich 36 % mehr Gewebe als die entsprechenden Einzelbiopsien, was einem um 5 % größeren Gewebezuwachs verglichen Doppelbiopsien mit Zangen mit Dorn entspricht (Abb.23).

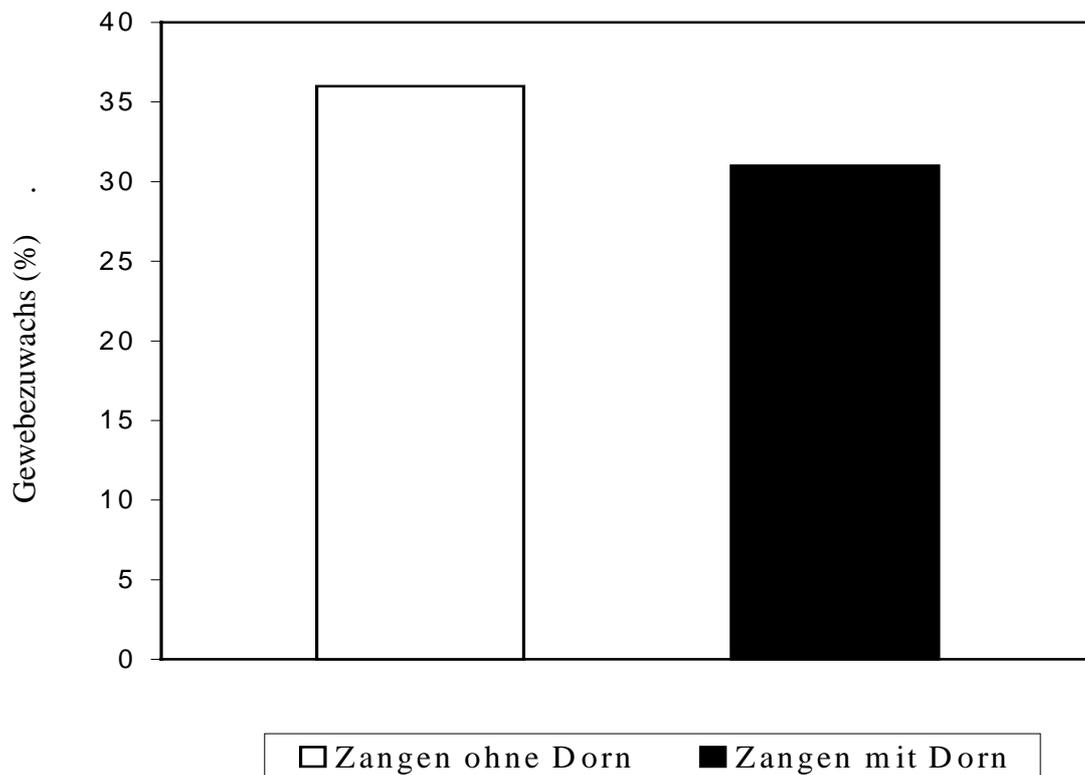


Abb. 23: Prozentualer Gewebezuwachs einer Doppelbiopsie mit Zangen ohne und mit Dorn im Vgl. zur Einzelbiopsie (n=79).

Wenn Doppelbiopsien mit Zangen ohne Dorn nur einen Partikel lieferten (n=20), so beträgt hier die durchschnittliche Proteinmenge der Einzelbiopsie $267 \mu\text{g} \pm 105 \mu\text{g}$ und die der jeweiligen Doppelbiopsie (n=20) $239 \mu\text{g} \pm 109 \mu\text{g}$ (Abb. 24).

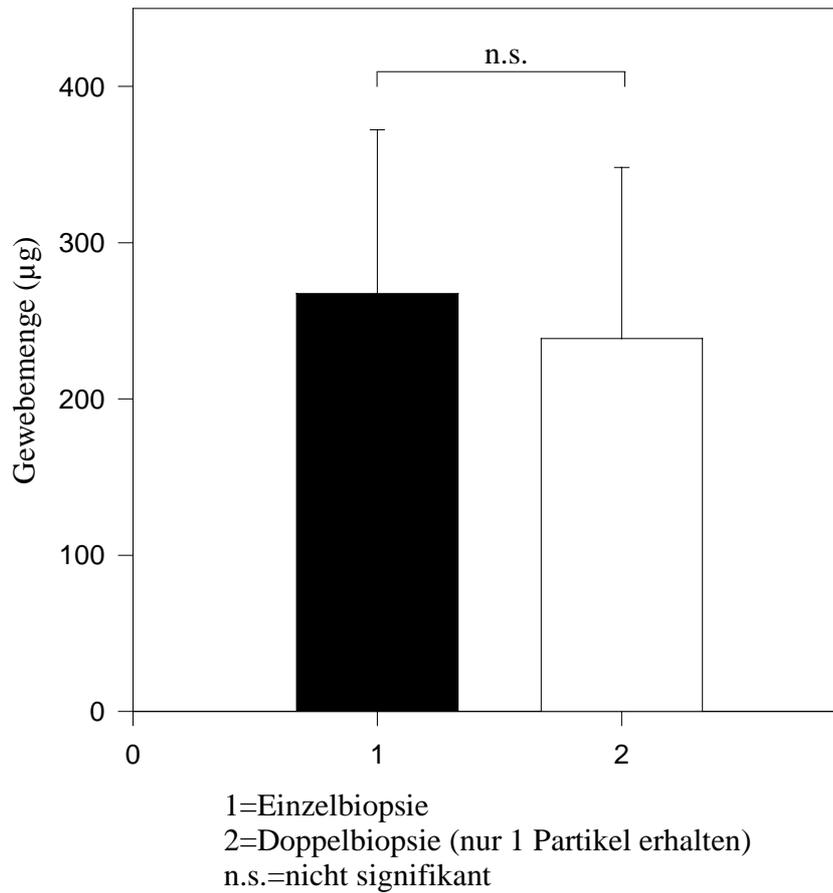


Abb. 24: Vergleich der gewonnenen Gewebemenge von Einzel- und Doppelbiopsie mit Zangen ohne Dorn, wenn bei der Doppelbiopsie nur ein Partikel erhalten wurde (n=20)

Lieferte also eine Doppelbiopsie mit einer Zange ohne Dorn nur einen Partikel, ergab sich kein Gewebezuwachs im Vergleich zur Einzelbiopsie, sondern eine um 10% verringerte Gewebemenge.

Betrachtet man die Biopsien, die mit Zangen ohne Dorn durchgeführt worden sind und bei denen bei der Doppelbiopsie zwei Partikel erhalten wurden (n=40), so beträgt hier die durchschnittliche Proteinmenge der Einzelbiopsie $266 \mu\text{g} \pm 98 \mu\text{g}$ und die der jeweiligen Doppelbiopsie (n=40) $423 \mu\text{g} \pm 144 \mu\text{g}$ (Abb. 25).

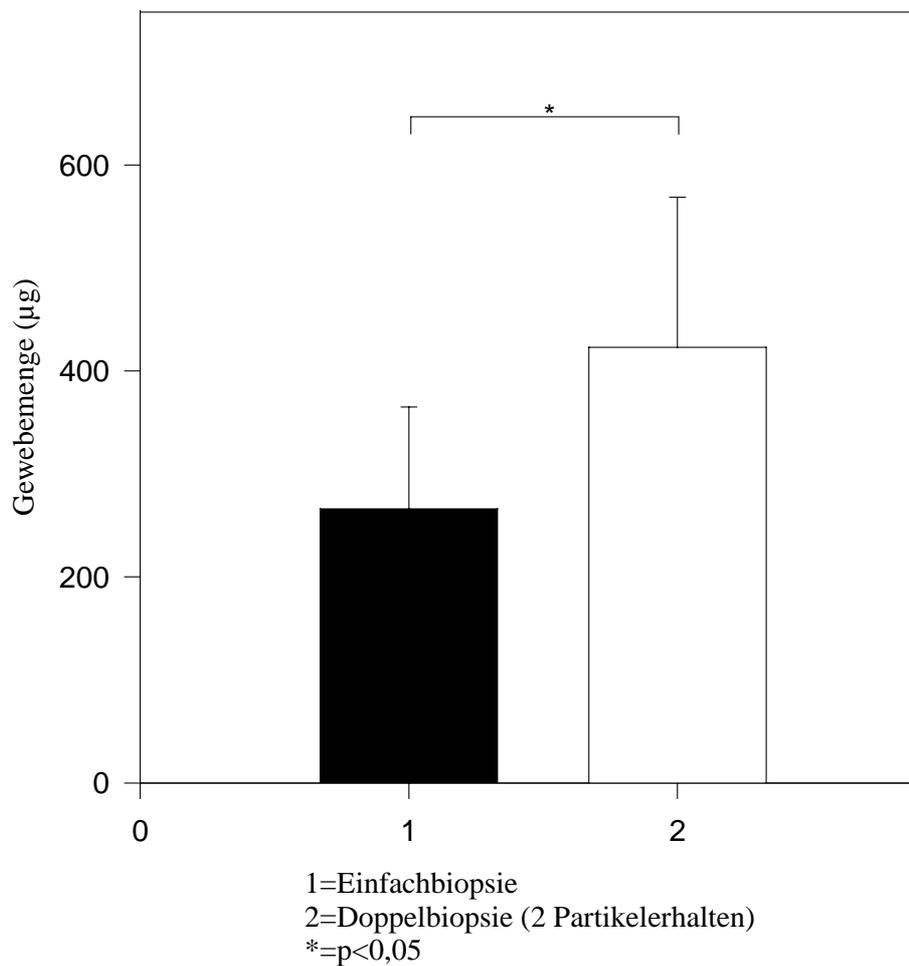


Abb. 25: Vergleich der gewonnenen Gewebemenge von Einzel- und Doppelbiopsie mit Zangen ohne Dorn, wenn bei der Doppelbiopsie zwei Partikel erhalten wurden (n=40)

Doppelbiopsien mit Zangen ohne Dorn lieferten also, wenn zwei Partikel gewonnen wurden, was in 67 % der Fälle war, durchschnittlich 59 % mehr Gewebe als die entsprechenden Einzelbiopsien. Wird mit Zangen ohne Dorn eine Doppelbiopsie durchgeführt und werden

hierbei zwei Partikel erhalten (n=40), so ist der Gewebszuwachs von der Einzel- zur Doppelbiopsie fast doppelt so hoch, als wenn mit Zangen mit Dorn biopsiert würde (n=19),(Abb. 26).

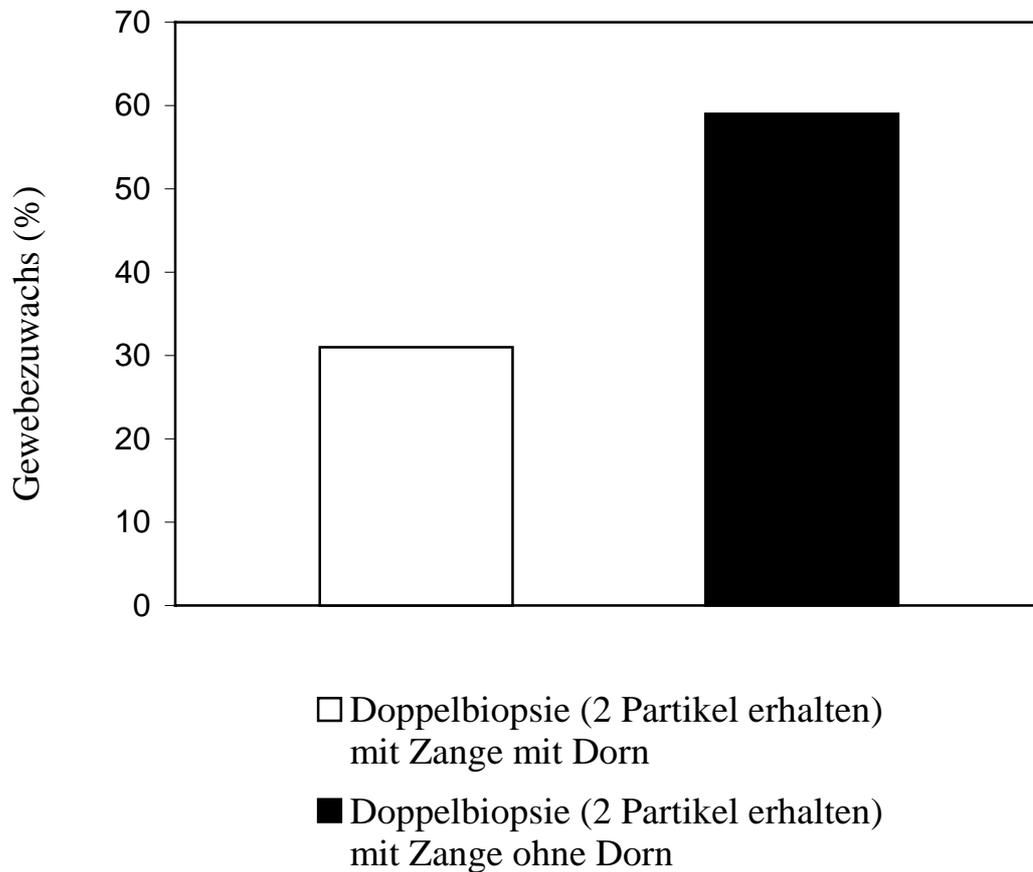


Abb. 26: Prozentualer Gewebegewinn einer Doppelbiopsie im Vergleich zur Einzelbiopsie einmal mit einer Zange mit Dorn (n=40) und einmal mit einer Zange ohne Dorn (n=19) durchgeführt für die Fälle, in denen zwei Partikel erhalten wurden

Diese Überlegenheit der Zangen ohne Dorn wird , wie oben erwähnt, eingeschränkt durch den Verlust eines Biopsiepartikels bei der Doppelbiopsie in einem Drittel der Fälle.

Aufgetrennt nach den verwendeten neun verschiedenen Biopsiezangentypen ergibt sich ein Proteinmengenzuwachs der Doppelbiopsie im Vergleich zur Einfachbiopsie von 17 bis 105 %.

6.3. Quantifizierung der Gewebeausbeute durch Endoskopiebürste, Biopsiezange mit Dorn, Multibitezange und Zytospirale

In einer dritten Versuchsreihe wurde die mit verschiedenen Instrumenten erzielbare Gewebemenge anhand des Proteingehaltes der Partikel ermittelt. Verglichen wurden eine Endoskopiebürste, eine Biopsiezange mit Dorn, die Multibitezange und die Zytospirale. Wie die zweite Versuchsreihe gezeigt hatte, konnten mit Dornzangen in 100 % der Doppelbiopsien zwei Partikel gewonnen werden, was den erneuten Einsatz einer Zange mit Dorn zur Dreifachbiopsie rechtfertigte.

Ziel dieser Untersuchungsreihe war es, die mit der neuen Zytospirale erzielbare Gewebeausbeute zu vergleichen mit der anderer gebräuchlicher Instrumente. Hierzu wurden in 50 Untersuchungsgängen insgesamt 400 Proben aus einem am Endoskopiesimulator angebrachten explantierten Schweinedarm entnommen. In randomisierter Reihenfolge wurden die vier genannten Instrumente im selben Entnahmeareal eingesetzt. Sowohl mit der Multibitezange, als auch mit der Biopsiezange mit Dorn wurden jeweils Dreifachbiopsien vorgenommen. Bei allen Dreifachbiopsien wurden drei Partikel erhalten.

Mit der Endoskopiebürste wurde eine durchschnittliche Proteinmenge von $98 \mu\text{g} \pm 51 \mu\text{g}$ erreicht (n=50). Die durchschnittliche Proteinmenge der drei Partikel nach einer Dreifachbiopsie mit einer konventionellen Dornzange betrug $251 \mu\text{g} \pm 88 \mu\text{g}$ (n=50). Die durchschnittliche Proteinmenge der drei Partikel nach einer Dreifachbiopsie mit der Multibitezange lag bei $264 \mu\text{g} \pm 109 \mu\text{g}$ (n=50). Es ergab sich also kein signifikanter Unterschied zwischen der Gewebemenge, die in einer Dreifachbiopsie mit der Multibitezange, und der, die in einer Dreifachbiopsie mit der Dornzange gewonnen worden war (Abb. 27).

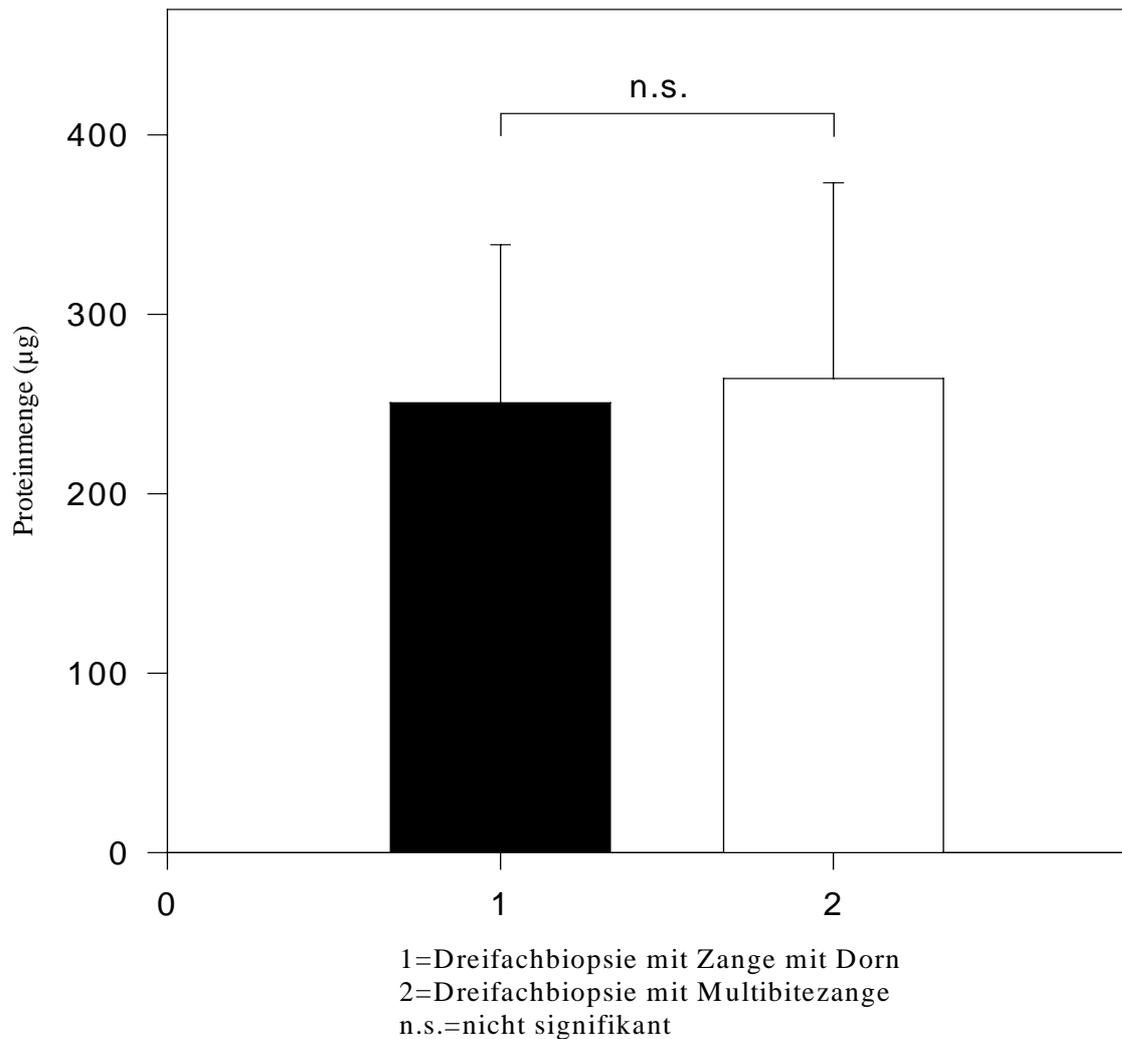
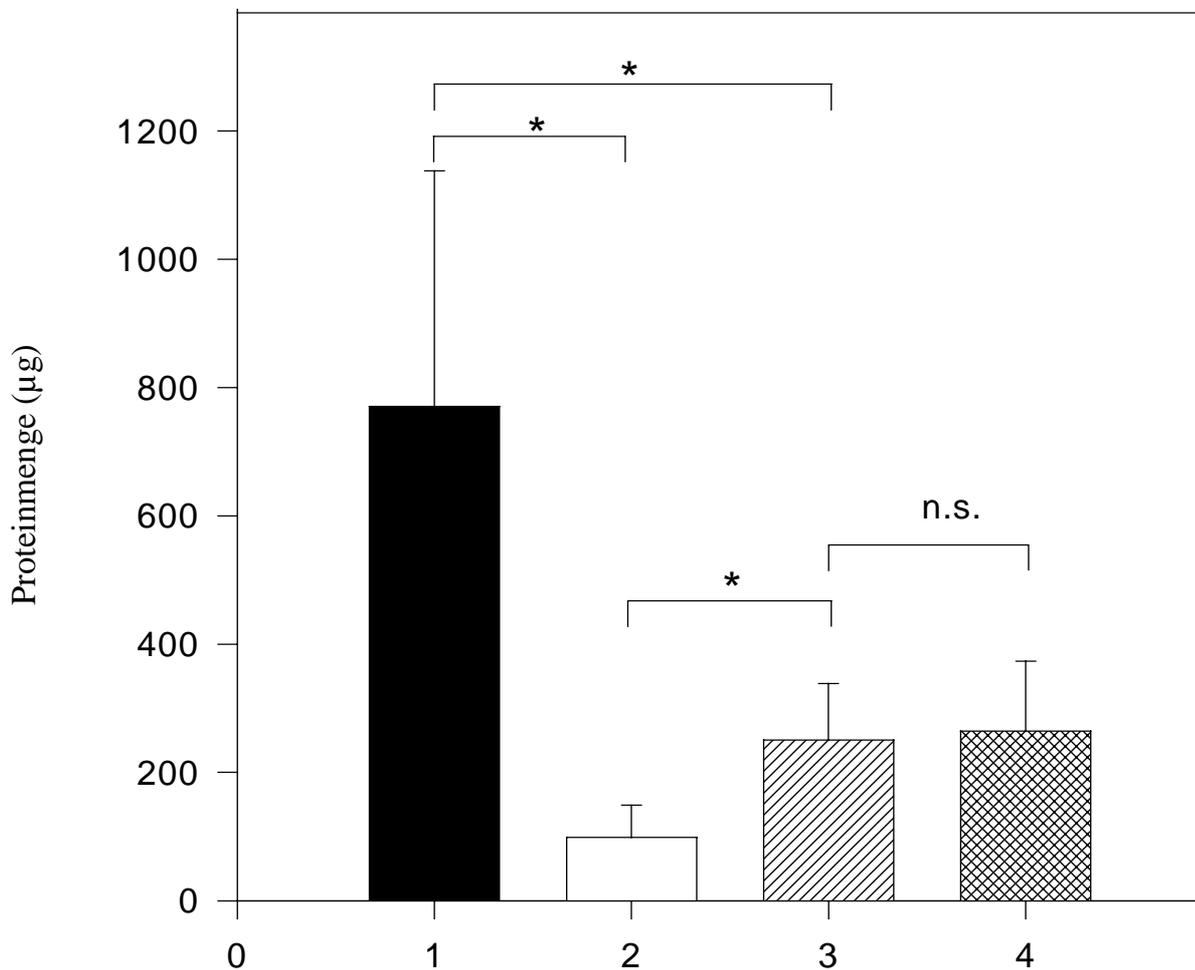


Abb. 27: Vergleich der Proteinmenge durch Dreifachbiopsie, die mit einer konventionellen Zange mit Dorn (n=50) und einer Multibitezange (n=50) entnommen wurden

Die mit der Zytopspirale erzielte Proteinmenge erreichte einen Durchschnittswert von $771 \mu\text{g} \pm 367 \mu\text{g}$ (n=50).

Die Zytopspirale war den übrigen Instrumenten hinsichtlich der Gewebemenge signifikant überlegen, erzielte 687 % mehr Gewebe als die Endoskopiebürste, 207 % mehr als die Multibitezange mit einer Dreifachbiopsie und 192 % mehr als die konventionelle gedornete Zange mit einer Dreifachbiopsie (Abb. 28 und 29).



1= Zytospirale
 2= Endoskopiebürste
 3= Zange mit Dorn
 4= Multibitezange
 *= $p < 0,05$
 n.s.= nicht signifikant

Abb. 28: Vergleich der mit Endoskopiebürste (n=50), Biopsiezange mit Dorn (n=50), Multibitezange (n=50) und Zytospirale (n=50) gewonnenen Gewebemengen anhand des Proteingehalts der Partikel



Abb. 29: Gewebeausbeute mit verschiedenen endoskopischen Instrumenten; die den einzelnen Instrumenten, Zytologiebürste, Dornzange, Multibitezange und Zytospirale (von links nach rechts), zugeordneten Gläschen zeigen die mit dem jeweiligen Instrument gewonnene Gewebeausbeute

7. Diskussion

Die Sensitivität der konventionellen endoskopischen Bürstenzytologie ist nicht zufriedenstellend. Beispielsweise beträgt sie in der Diagnostik des cholangiozellulären Karzinoms etwa. 50 % [11;33;41;46;53;78]. Bei Malignomen im Gastrointestinaltrakt reicht sie von 40 bis 90 % [4;9;19;25;26;31;33;35;37;41;42;59;61;67;68;78]. Die Sensitivität der Zytologie schwankt bei Gewinnung des Materials mit anderen zytologischen Instrumenten, Ballonen, Sonden, Schwämmen oder dem elastischen Plastikschauch von 18 bis 93 % [60], [7;10;17;20;24;45;56;69;71;72].

Unterstellt man, die Sensitivität korreliere mit der Menge an Gewebe, das zur zytologischen und histologischen Untersuchung endoskopisch gewonnen wird, läßt sich folgern, daß sich die diagnostische Trefferquote bessert, wenn mehr Gewebe für die Untersuchung zur Verfügung steht.

Bisher war die Menge an Gewebe, das mit verschiedenen zytologischen und biopsischen Methoden gesammelt wurde, nicht präzise quantifiziert worden, weshalb ein exakter Vergleich der relativen Quantität der Proben nicht möglich war. Die Menge wurde mit Termini angegeben wie adäquat/inadäquat, spärlich/reichlich, ausreichend/nicht ausreichend, zufriedenstellend/nicht zufriedenstellend, wenig/mäßig/reichlich. Als Maß für die Gewebemenge von Zangenbiopsien wurde in manchen Studien der Durchmesser, das Volumen oder das Gewicht angegeben [5;13;73;77;80;81]. Diese drei Parameter sind als Vergleichsmaß für Biopsiepartikel geeignet, nicht aber für die Quantifizierung von Material für die zytologische Untersuchung; auch ist kein quantitativer Vergleich zwischen histologischem Material, z.B. Biopsiepartikeln, und zytologischem Material, z.B. Gewebeflocken einer Zytologiebürste, möglich.

Dem Ziel, durch mehr Gewebe eine höhere Sensitivität der zyto- und histologischen Diagnostik, zu erreichen, dient ein neues endoskopisches Instrument, die Zytospirale. Zur Gewebegewinnung wird die Zytospirale im Zielgebiet placiert. Anschließend wird am proximalen (externen) Ende der Zytospirale ein Sog angelegt, der bewirkt, daß das Gewebe zwischen die Windungen der Spirale gesaugt wird. Bewegt man nun die Spirale und extrahiert sie unter Aufrechterhaltung des Sogs aus dem Zielgebiet, wird das zwischen die Spiralwindungen gesogene Gewebe abgeschert und im Inneren der Spirale gesammelt. Die extrahierte Spirale wird in der Transportlösung ausgeschüttelt und mit einer am proximalen Ende angesetzten Spritze ausgeblasen, um zwischen den Spiralwindungen hängengebliebenes Gewebe freizusetzen.

Weil die geringen Gewebemengen, die mit Instrumenten für die Entnahme von Material für die Zytologie gewonnen werden, mit den üblichen Methoden nicht exakt quantifizierbar sind, wurde die Gewebemenge bisher lediglich geschätzt und mit Termini wie „spärlich...“ angegeben. Deshalb wurde erstmals zur Quantifizierung eine Methode herangezogen, die bisher zu diesem Zweck nicht verwendet wurde, nämlich die kolorimetrische Quantifizierung der Proteinmenge eines Gewebepartikels. Unter der Annahme, daß der relative Proteinanteil des Gewebes für die zu vergleichenden Proben konstant ist, wurde bei allen Gewebeproben, d.h. für das zytologische und bioptische Material, der Proteingehalt bestimmt und für den Vergleich der mit den verschiedenen Methoden gewonnenen Gewebemenge herangezogen.

In der ersten Versuchsreihe wurde die mit verschiedenen Biopsiezangen (Löffel rund, kurzoval und langoval) erzielte Gewebemenge anhand des photometrisch bestimmten Proteingehalts ermittelt. Es ergab sich eine größere Gewebeausbeute mit steigendem Löffelvolumen; die langovale Zange erbrachte mit 482 µg die signifikant größte Gewebemenge, gefolgt von der kurzovalen mit 435 µg, die immer noch signifikant mehr Gewebe lieferte als die runde Zange, die durchschnittlich 290 µg erreichte. Dieses Ergebnis korreliert mit den Ergebnissen anderer Studien, die mit anderen Methoden gewonnen wurden. Es zeigt auch, daß die hier verwendete Proteinbestimmung als probates Maß für die gewonnene Gewebemenge geeignet ist und auch in den folgenden Versuchsreihen angewendet werden konnte [5;13;40;73;80;81].

In einer zweiten Versuchsreihe wurde untersucht, ob die Gewebemenge nicht nur durch Veränderung der Grösse und des Designs des Zangemauls, sondern auch durch eine neue, einfache Technik, nämlich die Doppelbiopsie (double bite), zu vergrößern ist. Unter einer Doppelbiopsie ist ein zweimaliger konventioneller Biopsievorgang zu verstehen, mit dem Unterschied, daß die Biopsiezange zwischen beiden Biopsievorgängen nicht aus dem Endoskop extrahiert wird. Es wird die Zange also in situ zweimal hintereinander geöffnet und geschlossen, um zweimal direkt hintereinander zu biopsieren, und erst dann aus dem Endoskop gezogen, wonach die beiden Biopsiepartikel gemeinsam im Probengläschen deponiert werden. Auf diese Weise soll der mit der Durchführung von Biopsien verbundene Zeitaufwand verkürzt werden. Dies scheint von besonderem Belang bei Untersuchungen, die eine größere Biopsieanzahl erfordern, wie zum Beispiel Stufenbiopsien bei der Colitis ulcerosa, bei der nach langjährigem Verlauf mindestens 40-50 Biopsien zum Screening auf Dysplasie gefordert werden, oder Vier-Quadranten-Biopsien beim Barrett-Ösophagus; auch bei jeweils zwei Antrum- und Corpus-Routine-Biopsien für die Helicobacter pylori-Diagnostik ist eine Verkürzung der Biopsiezeit relevant.

In 79 Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes, bei denen insgesamt 237 Biopsien durchgeführt worden sind, konnte durch die Doppelbiopsie mit durchschnittlich 34% ein signifikanter Gewebezuwachs im Vergleich zur Einfachbiopsie erreicht werden, unabhängig davon, welche der neun verschiedenen, in der endoskopischen Routine eingesetzten Zangen verwendet wurde. Daraus folgt, daß die Doppelbiopsie von Vorteil ist, wenn mehrere Biopsien benötigt werden. Die getesteten konventionellen Biopsiezangen sind zur Doppelbiopsie im Hinblick auf eine zusätzliche Gewebeausbeute bei geringerem Zeitaufwand grundsätzlich geeignet.

Schlüsselt man die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe nach Zangentypen mit und ohne Dorn auf, ist es schwieriger Folgerungen für die Praxis zu ziehen. Die Tatsache, daß 100 % der Doppelbiopsien, die mit Zangen mit Dorn durchgeführt wurden, zwei Biopsiepartikel lieferten, was nur auf 67 % der mit Zangen ohne Dorn vorgenommenen Doppelbiopsien zutraf, würde es nahelegen, zur Doppelbiopsie grundsätzlich Zangen mit Dorn zu verwenden, um nicht in 1/3 der Doppelbiopsien während des Biopsievorganges einen Partikel zu verlieren und somit keinen Gewebezuwachs zu erhalten. Betrachtet man aber diejenigen Doppelbiopsien mit Zangen ohne Dorn, bei denen zwei Biopsiepartikel erhalten wurden, beträgt der durchschnittliche Gewebezuwachs 59 %, was insgesamt etwa dem doppelten Gewebezuwachs, der mit Dornzangen erreicht wurde, entspricht. Werden also mit einer Zange ohne Dorn bei einer Doppelbiopsie zwei Partikel erhalten, ergibt sich mit 59 % ein signifikanter Gewebezuwachs im Vergleich zur konventionellen Einzelbiopsie, der nahezu doppelt so groß ist wie der 31%ige Zuwachs bei Dornzangen. Eingeschränkt wird diese scheinbare Überlegenheit der dornlosen Zangen durch die Tatsache, daß bei einem Drittel der Doppelbiopsien ein Partikel während des Biopsievorganges verloren geht. Offensichtlich wird der erste Biopsiepartikel im Löffel der Dornzange während des zweiten Öffnens des Zangenmauls besser gehalten, während er sich bei Zangen ohne Dorn lose zwischen den Branchen befindet und dadurch beim erneuten Öffnen des Zangenmauls zur Doppelbiopsie leichter herausfallen kann. Der Grund für den geringeren Gewebezuwachs bei Doppelbiopsien mit Dornzangen könnte das um den Dorn verringerte Maulvolumen bei Dornzangen sein. Möglicherweise existiert nicht immer genügend Platz für die zweite Biopsie, was zur Folge haben könnte, daß die Biopsiepartikel zusammengepreßt werden und über die Branchen herausragendes Gewebe beim zweiten Schließen der Zange abgeschnitten wird. Auch ist vorstellbar, daß durch das Vorhandensein eines ersten Partikels im Zangenlöffel nur eine geringere Eindringtiefe der Zange in das Gewebe möglich wird und somit der zweite Partikel kleiner ausfällt. Diese Beschränkung würde Biopsien zutreffen, die mit Zangen mit und ohne

Dorn gewonnen werden und erklären, weshalb der Gewebezuwachs einer Doppelbiopsie verglichen mit einer Einzelbiopsie im Durchschnitt nicht 100 % erreicht.

Eine eindeutige Überlegenheit der Dornzange über eine Zange ohne Dorn kann also bei der Doppelbiopsie nicht festgestellt werden. Die Versuche haben aber eine signifikant größere Gewebeausbeute der Doppel- im Vergleich mit der Einzelbiopsie ergeben, die den Einsatz der Doppelbiopsie zur Zeiteinsparung in der Endoskopieroutine rechtfertigt. Dieses Ergebnis muß in weiteren Untersuchungen, die v.a. die histopathologische Beurteilbarkeit der Partikel zum Ziel haben, überprüft werden.

In den ersten beiden Versuchsreihen konnte durch Variation des Zangendesigns mit Vergrößerung der Zangenlöffel und durch Änderung der Biopsietechnik, Doppel- statt Einfachbiopsie, die erhaltene Gewebemenge vergrößert werden. In der dritten und letzten Versuchsreihe wurde ein neu entwickeltes Instrument zur endoskopischen Gewebeentnahme, die Zytospirale verglichen mit dem zumeist eingesetzten konventionellen Instrument zur Gewinnung zytologischen Materials, der Endoskopiebürste; darüber hinaus wurde die mit der Zytospirale erzielbare Gewebemenge verglichen mit der Gewebeausbeute durch eine Biopsiezange, die bekanntermaßen eine weitaus höhere Gewebemenge liefert, als konventionelle Zytologieinstrumente. Auch hier lag die Hypothese zugrunde, daß sich durch ein Mehr an Gewebe die diagnostische Sensitivität und Spezifität erhöhen läßt.

Um statistisch aussagekräftige Zahlen zu erhalten, wurde an einem Endoskopiesimulator mit den verschiedenen Instrumenten Gewebe aus dem Schweinecolon entnommen.

Die weitaus geringste Gewebemenge wurde mit der konventionellen Endoskopiebürste erzielt. Dieser Nachteil der Bürste gegenüber der Biopsiezange wird in Kauf genommen, weil verschiedene Zielgebiete mit der Biopsiezange nicht oder nur mit Schwierigkeiten zu erreichen sind; Beispiele sind hochgradige und irreguläre Stenosen im pankreatikobiliären System, aber auch gelegentlich im Gastrointestinaltrakt. Den Vorteil, Regionen zu erreichen, die der Biopsiezange nicht zugänglich sind, weist neben der Zytologiebürste auch die Zytospirale auf, weil sie hochgradig flexibel ist und über einen Führungsdraht in die Zielgebiete vorgeschoben werden kann. Darüber hinaus kann mit ihr auch in nicht stenosierte Arealen Gewebe gewonnen werden, wenn durch Anlegen eines Sogs über die Spirale Gewebe zwischen die Windungen eingesaugt und abgeschert wird.

In der zweiten Versuchsreihe konnte die höhere Effizienz der Doppelbiopsie gezeigt werden. Im Bestreben, die Effizienz noch weiter zu erhöhen, wurde die Doppelbiopsie zur Dreifachbiopsie erweitert, d.h. es wurden drei Biopsien hintereinander durchgeführt, ohne die Biopsiezange zwischenzeitlich aus dem Endoskop zu entfernen. Zum Einsatz kamen eine

konventionelle Zange mit Dorn, die bereits bei der Doppelbiopsie in 100% zwei Biopsiepartikeln geliefert hatte und die sogenannte Multibitezange, die vom Hersteller eigens zur Durchführung von Mehrfachbiopsien konzipiert wurde.

In allen Dreifachbiopsien wurden jeweils drei Biopsiepartikel erhalten, sowohl mit der herkömmlichen Biopsiezange mit Dorn, als auch mit der Multibitezange. Bezüglich der mit einer Dreifachbiopsie gewonnenen Biopsiemenge ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Multibitezange und der konventionellen Biopsiezange mit Dorn. Dieses Nebenergebnis läßt den Schluß zu, daß die spezielle Multibitezange gegenüber der konventionellen Biopsiezange mit Dorn bei Dreifachbiopsien keinen Vorteil bringt. Auch hier müssen weitere Studien zeigen, ob die am Endoskopiesimulator durchgeführten Dreifachbiopsien genauso auch in der Praxis am Patienten erfolgreich sind und ob die histopathologische Beurteilbarkeit dieser Biopsiepartikel ausreicht.

Verglichen mit der Gewebeausbeute der Endoskopiebürste lieferte die Zytospirale über siebenmal mehr Gewebe und verglichen mit einer Dreifachbiopsie mit einer Biopsiezange nahezu dreimal mehr Gewebe. Zu der klaren Überlegenheit beim Gewebegewinn durch die Zytospirale kommt das bereits angesprochene weite Einsatzspektrum der Zytospirale. Die gewonnenen Ergebnisse deuten neben des am Endoskopiesimulators komplikationslosen Einsatzes auf einen erfolgversprechenden Einsatz in der endoskopischen Routine hin. Natürlich müssen auch hier Folgestudien die Übertragbarkeit auf die Anwendung am Patienten und die diagnostische histopathologische Auswertbarkeit des mit der Zytospirale erhaltenen Materials überprüfen, um den Nachweis einer verbesserten Sensitivität der endoskopischen Diagnostik zu erbringen.

8. Zusammenfassung

Wegen der unzureichenden Sensitivität zytologischer Endoskopie-assoziiertes Diagnostik wurde untersucht, ob mit einem neu konzipierten, endoskopisch einsetzbaren Instrument, der Zytospirale, mehr Gewebe für die Zytologie gewonnen werden kann. Darüberhinaus wurde untersucht, wie sich der mit der endoskopischen Entnahme von Biopsien verbundene Zeitaufwand reduzieren läßt. Es wurde die Hypothese zugrunde gelegt, daß eine größere Menge an endoskopisch gewonnenem Gewebe zu einer höheren Sensitivität in der Diagnostik gastrointestinaler und pankreobiliärer Erkrankungen führt. Es wurden drei verschiedene Konzepte entwickelt, um einerseits die Gewebemenge zu vergrößern und andererseits, sozusagen als Nebeneffekt, die aufgewendete Zeit zu verkürzen.

Eine genaue Quantifizierung der kleinen, bei der Entnahme zytologischen Materials anfallenden Gewebemengen, wurde bisher nicht vorgenommen. Dazu wurde jetzt erstmals eine bekannte Methode, die der photometrischen Proteinbestimmung eingesetzt. Es wurde unterstellt, daß die Menge an Gewebe, das aus verschiedenen Regionen des gastrointestinalen und pankreobiliären Traktes entnommen wird, korreliert mit dem jeweiligen Proteingehalt des Gewebes.

Es ist bekannt, daß sich die durch Wiegen oder Ausmessen bestimmte Gewebemenge durch Vergrößerung des Mauls der Biopsiezange steigern läßt. Es wurde zunächst untersucht, ob sich dieser Sachverhalt bei Anwendung der photometrischen Proteinbestimmung bestätigen läßt. Dabei zeigte sich, daß die bisherigen mit anderen Methoden erzielten Ergebnisse bestätigt werden konnten.

Daraufhin wurde untersucht, ob mit einer neuen zeitsparenden Biopsietechnik, der Doppelbiopsie (double bite), die Menge des gewonnenen Gewebes vergrößert werden kann. Die Methode der Doppelbiopsie besteht darin, daß der Biopsievorgang zweimal unmittelbar hintereinander ausgeführt wird, ohne daß die Zange wie üblich nach jeder Einzelbiopsie zur Bergung des Partikels aus dem Endoskop extrahiert wird. Das Ergebnis der Untersuchung war, daß bei Verwendung konventioneller Biopsiezangen mit der Doppelbiopsie signifikant mehr Gewebe, nämlich 34 %, gewonnen wurde. Dieses Ergebnis legt den Einsatz dieser Technik in Hinblick auf die Zeitersparnis nahe, wenn es darum geht, multiple Biopsien zu entnehmen, z.B bei Patienten mit langjähriger Colitis ulcerosa. Es spielt hierbei keine Rolle, ob Zangen mit oder ohne Dorn verwendet werden.

Die eindrucksvollsten Resultate erbrachte die Quantifizierung der Gewebemenge, die mit einem neuen Instrument, der Zytospirale, gewonnen wird. Die Zytospirale ist eine an ihrem distalen Ende konisch zulaufende Metallspirale aus ca. 20 Windungen, welche an einem Kunststoffkatheter fixiert ist; sie wurde zur endoskopischen Gewebegewinnung speziell in Stenosen, aber auch in nicht stenotisch veränderten Arealen des Gastrointestinaltraktes und des pankreobiliären Systems konzipiert.

In einer Vergleichsreihe an einem Endoskopiesimulator ließ sich zeigen, daß die Zytospirale deutlich mehr Gewebe liefert als die derzeit üblichen Zytologiebürsten und Biopsiezangen, einschließlich der für Mehrfachbiopsien konzipierten Multibitezange. Im Vergleich zum einmaligen Gewebeentnahmevergung mittels einer Endoskopiebürste wurde die mit der Zytospirale erhaltene Gewebemenge um mehr als 500 % gesteigert; im Vergleich zu einer Dreifachbiopsie mit einer Biopsiezange, sowohl mit einer konventionellen als auch mit der Multibitezange, um fast 200 %. Komplikationen während des Einsatzes der Zytospirale am Endoskopiesimulator traten nicht auf. In einer weiteren Versuchsreihe ergab sich, daß bei jeder ausgeführten Dreifachbiopsie drei Biopsiepartikel erhalten wurden. Hieraus läßt sich folgern, die für die Endoskopieroutine vorgeschlagene Doppelbiopsie auf eine Dreifachbiopsie auszuweiten.

Weitere Studien mit zytologischen und histopathologischen Untersuchungen müssen sich anschließen, um zu zeigen, ob die in den drei Versuchsreihen erbrachte Steigerung der gewonnenen Gewebemenge tatsächlich eine verbesserte Sensitivität der endoskopischen Diagnostik erbringt. Ebenso muß sich zeigen, ob der am Endoskopiesimulator problemlose und komplikationsfreie Einsatz der Zytospirale auch am Patienten möglich ist.

9. Literaturverzeichnis

1. Werbeanzeige. *Bulletin of Gastroscopy and Esophagoscopy* 6 (1959), 23.
2. Bardales,R.H., Stanley,M.W., Simpson,D.D., Baker,S.J., Steele,C.T., Schaefer,R.F., and Powers,C.N., Diagnostic value of brush cytology in the diagnosis of duodenal, biliary, and ampullary neoplasms, *Am. J. Clin. Pathol.*, 109 (1998) 540-548.
3. Baron,T.H., Lee,J.G., Wax,T.D., Schmitt,C.M., Cotton,P.B., and Leung,J.W., An in vitro, randomized, prospective study to maximize cellular yield during bile duct brush cytology [see comments], *Gastrointest. Endosc.*, 40 (1994) 146-149.
4. Behmard,S., Sadeghi,A., and Bagheri,S.A., Diagnostic accuracy of endoscopy with brushing cytology and biopsy in upper gastrointestinal lesions, *Acta Cytol.*, 22 (1978) 153-154.
5. Bernstein,D.E., Barkin,J.S., Reiner,D.K., Lubin,J., Phillips,R.S., and Grauer,L., Standard biopsy forceps versus large-capacity forceps with and without needle [see comments], *Gastrointest. Endosc.*, 41 (1995) 573-576.
6. Bhasin,D.K., Kochhar,R., Rajwanshi,A., Gupta,S.K., and Mehta,S.K., Endoscopic suction cytology in upper gastrointestinal tract malignancy, *Acta Cytol.*, 32 (1988) 452-454.

7. Brandt,L.J., Coman,E., Schwartz,E., Schoen,R.E., Siciliano,G., Surland,M., and Chacho,M., Use of a new cytology balloon for diagnosis of symptomatic esophageal disease in acquired immunodeficiency syndrome, *Gastrointest. Endosc.*, 39 (1993) 559-561.
8. Burroughs FH,E.Y., Comparison of ThinPrep and Conventional Preparations in Alimentary Tract Cytopathology. *Acta Cytol.* 37 (1993), 799.
9. Camp,R., Rutkowski,M.A., Atkison,K., Niedzwick,L., and Vakil,N., A prospective, randomized, blinded trial of cytological yield with disposable cytology brushes in upper gastrointestinal tract lesions [see comments], *Am. J. Gastroenterol.*, 87 (1992) 1439-1442.
10. Casco,C., Martins,D., Lettieri,S., and Rubio,H.W., A new device for abrasive cytology sampling during upper gastrointestinal endoscopy: experience in infectious and neoplastic diseases, *Endoscopy*, 31 (1999) 348-351.
11. Cohen,M.B., Wittchow,R.J., Johlin,F.C., Bottles,K., and Raab,S.S., Brush cytology of the extrahepatic biliary tract: comparison of cytologic features of adenocarcinoma and benign biliary strictures, *Mod. Pathol.*, 8 (1995) 498-502.
12. Compton J et al., Sputum Cytology: A Comparison of Two Methods, the Conventional Saccamanno Preparation and the ThinPrep Processor. *Acta Cytol.* 37 (1993), 797.

13. Danesh,B.J., Burke,M., Newman,J., Aylott,A., Whitfield,P., and Cotton,P.B.,
Comparison of weight, depth, and diagnostic adequacy of specimens obtained with 16
different biopsy forceps designed for upper gastrointestinal endoscopy, *Gut*, 26 (1985)
227-231.
14. Davis,A., Rudolf Schindler`s role in the development of gastroscopy. *Bull.Hist.Med.*
46 (1972), 153.
15. Demling,L., Koch,H., Classen,M., Belohlavek,D., Schaffner,O., Schwamberger,K.,
and Stolte,M., [Endoscopic papillotomy and removal of gall-stones: animal
experiments and first clinical results (author's transl)]
Endoskopische Papillotomie und Gallensteinentfernung. Tierexperimentelle
Untersuchungen und erste klinische Erfahrungen, *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 99 (1974)
2255-2257.
16. Edmonson,J.M., History of the instruments for gastrointestinal endoscopy,
Gastrointest. Endosc., 37 (1991) S27-S56.
17. Falk,G.W., Chittajallu,R., Goldblum,J.R., Biscotti,C.V., Geisinger,K.R., Petras,R.E.,
Birgisson,S., Rice,T.W., and Richter,J.E., Surveillance of patients with Barrett's
esophagus for dysplasia and cancer with balloon cytology [see comments],
Gastroenterology, 112 (1997) 1787-1797.
18. Falk,G.W., Rice,T.W., Goldblum,J.R., and Richter,J.E., Jumbo biopsy forceps
protocol still misses unsuspected cancer in Barrett's esophagus with high-grade
dysplasia, *Gastrointest. Endosc.*, 49 (1999) 170-176.

19. Farouk,R., Dodds,J., MacDonald,A.W., Young,W., Duthie,G.S., Lee,P.W., and Monson,J.R., Feasibility study for use of brush cytology as a complementary method for diagnosis of rectal cancer, *Dis. Colon Rectum*, 40 (1997) 609-613.
20. Fennerty,M.B., DiTomasso,J., Morales,T.G., Peterson,D., Karmakar,A., Fernandez,T., and Sampliner,R., Screening for Barrett's esophagus by balloon cytology, *Am. J. Gastroenterol.*, 90 (1995) 1230-1232.
21. Fern Miller,B.C.,Cytospin vs. ThinLayer Technology: Nongynecologic Evaluation. *Acta Cytol.* 37 (1993), 798.
22. Friedenwald,J. and Morrison,S., The history of the development of the stomach tube with some notes on the duodenal tube. *Bull.Hist Med* 4 (1936), 425-454.
23. Gilbert,D.A., DiMarino,A.J., Jensen,D.M., Katon,R., Kimmey,M.B., Laine,L.A., MacFadyen,B.V., Michaletz-Onody,P.A., and Zuckerman,G., Status evaluation: sphincter of Oddi manometry. American Society for Gastrointestinal Endoscopy. Technology Assessment Committee, *Gastrointest. Endosc.*, 38 (1992) 757-759.
24. Greenebaum,E., Schreiber,K., Shu,Y.J., and Koss,L.G., Use of the esophageal balloon in the diagnosis of carcinomas of the head, neck and upper gastrointestinal tract, *Acta Cytol.*, 28 (1984) 9-15.
25. Halpern,M., Gal,R., Rath,W.L., Koren,R., Weil,R., and Avni,A., Brush cytology and biopsy in the diagnosis of colorectal cancer. A comparison, *Acta Cytol.*, 41 (1997) 628-632.

26. Hardwick,R.H., Morgan,R.J., Warren,B.F., Lott,M., and Alderson,D., Brush cytology in the diagnosis of neoplasia in Barrett's esophagus, *Dis. Esophagus.*, 10 (1997) 233-237.
27. Hees,K.L.P., Comparison of Conventional and ThinPrep Preparations of Mucoid Cytology Samples. *Diagn.Cytopathol.* 12 (1995), 181-185.
28. Hirschowitz,B.I., A personal history of the fiberscope, *Gastroenterology*, 76 (1979) 864-869.
29. Howell,D.A., Parsons,W.G., Jones,M.A., Bosco,J.J., and Hanson,B.L., Complete tissue sampling of biliary strictures at ERCP using a new device, *Gastrointest. Endosc.*, 43 (1996) 498-502.
30. Ingegno,A.P. and Degradi,A., Historical note: the first total colonoscopy. *Am.J.Gastro.* 80 (1985), 605-607.
31. Jeffrey,M.,Usefulness of cytopathology and histology in the evaluation of Barrett`s esophagus in a community hospital. *Gastrointest.Endosc.* 46 (1997), 318-320.
32. Kasimer TN et al., Application of CytoLyt- And PreservCyt-Fixed Specimens in DNA Flow Cytometry. *Acta Cytol.* 37 (1993), 798.
33. Kasugai,T., Kobayashi,S., and Kuno,N., Endoscopic cytology of the esophagus, stomach and pancreas, *Acta Cytol.*, 22 (1978) 327-330.

34. Killian,G., Zur Geschichte der Ösophago- und Gastroskopie. Dt.Z.Chir. 59 (1901), 499-512.
35. King,A.J., McCabe,J., Waldron,M., Kerin,M.J., McGuire,M., and Given,H.F., Combined endoscopic cytology and biopsies in the diagnosis of duodenal malignancy, Br. J. Clin. Pract., 44 (1990) 264-265.
36. Kirsner,J.B., The origin of 20th century discoveries transforming clinical gastroenterology, Am. J. Gastroenterol., 93 (1998) 862-871.
37. Kobayashi,S., Prolla,J.C., Winans,C.S., and Kirsner,J.B., Improved endoscopic diagnosis of gastroesophageal malignancy. Combined use of direct vision brushing cytology and biopsy, JAMA, 212 (1970) 2086-2089.
38. Koch,H., Rosch,W., Schenk,J., and Demling,L., [Endoscopic papillotomy (author's transl)] Endoskopische Papillotomie, MMW. Munch. Med. Wochenschr., 121 (1979) 587-590.
39. Kuramata,H., Unayama,S., and Eto,T.et.al., Biopsy diagnosis of submucosal tumor of the stomach, using therapeutic fiberscope, TGF-S. Progress of Digestive Endoscopy 1 (1972), 27.
40. Ladas,S.D., Tsamouri,M., Kouvidou,C., and Raptis,S.A., Effect of forceps size and mode of orientation on endoscopic small bowel biopsy evaluation [see comments], Gastrointest. Endosc., 40 (1994) 51-55.

41. Lee,J.G., Leung,J.W., Baillie,J., Layfield,L.J., and Cotton,P.B., Benign, dysplastic, or malignant-making sense of endoscopic bile duct brush cytology: results in 149 consecutive patients, *Am. J. Gastroenterol.*, 90 (1995) 722-726.
42. Leon,B.R., Gilman,R.H., Rodriguez,C., Bonilla,J.J., Yi,A., Maurtua,D., and Sack,R.B., Comparison of three methods to obtain upper small bowel contents for culture [see comments], *Am. J. Gastroenterol.*, 88 (1993) 925-928.
43. Levine,D.S. and Reid,B.J., Endoscopic biopsy technique for acquiring larger mucosal samples, *Gastrointest. Endosc.*, 37 (1991) 332-337.
44. Lindenberg,G. and Niedobitek,F., Anforderung an eine Biopsie aus Sicht des Pathologen. *Praxis* 1 (1999), 4-6.
45. Liu,S.F., Shen,Q., Dawsey,S.M., Wang,G.Q., Nieberg,R.K., Wang,Z.Y., Weiner,M., Zhou,B., Cao,J., Yu,Y., and et.a., Esophageal balloon cytology and subsequent risk of esophageal and gastric-cardia cancer in a high-risk Chinese population, *Int. J. Cancer*, 57 (1994) 775-780.
46. Mansfield,J.C., Griffin,S.M., Wadehra,V., and Matthewson,K., A prospective evaluation of cytology from biliary strictures, *Gut*, 40 (1997) 671-677.
47. McGuire,D.E., Venu,R.P., Brown,R.D., Etkorn,K.P., Glaws,W.R., and Abu,H.A., Brush cytology for pancreatic carcinoma: an analysis of factors influencing results, *Gastrointest. Endosc.*, 44 (1996) 300-304.

48. Oliver Lowry, O.H., Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193 (1951), 265-275.
49. Ottenjann R., Erfolge und Grenzen der bioptischen Diagnostik beim Magenkarzinom. *Verdauungskrankheiten* 12 (1994), 197-201.
50. Parasher, V.K. and Huibregtse, K., Endoscopic retrograde wire-guided cytology of malignant biliary strictures using a novel scraping brush, *Gastrointest. Endosc.*, 48 (1998) 288-290.
51. Peterson, G.L., Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall, *Anal. Biochem.*, 100 (1979) 201-220.
52. Petrini, J.L., Video endoscopy. *Gastrointest. Endosc.* (1987) 254-262.
53. Ponchon, T., Gagnon, P., Berger, F., Labadie, M., Liaras, A., Chavaillon, A., and Bory, R., Value of endobiliary brush cytology and biopsies for the diagnosis of malignant bile duct stenosis: results of a prospective study, *Gastrointest. Endosc.*, 42 (1995) 565-572.
54. Ponsioen, C.Y., Vrouwenraets, S.M., Milligen-de-Wit, A.W., Sturm, P., Tascilar, M., Offerhaus, G.J., Prins, M., Huibregtse, K., and Tytgat, G.N., Value of brush cytology for dominant strictures in primary sclerosing cholangitis [see comments], *Endoscopy*, 31 (1999) 305-309.
55. Pugliese, V., Conio, M., Nicolo, G., Saccomanno, S., and Gatteschi, B., Endoscopic retrograde forceps biopsy and brush cytology of biliary strictures: a prospective study, *Gastrointest. Endosc.*, 42 (1995) 520-526.

56. Qin,D. and Zhou,B., Elastic plastic tube for detecting exfoliative cancer cells in the esophagus, *Acta Cytol.*, 36 (1992) 82-86.
57. Rabinov,K.R. and Peroral,S.M., Cannulation of the ampulla of Vater for direct cholangiography and pancreatography. *RADLA* 85 (1965), 693.
58. Rathert,P. and Bozzini,P. (1773-1809) and the Lichtleiter. *URGYA* 3 (1974), 113-118.
59. Robey,S.S., Hamilton,S.R., Gupta,P.K., and Erozan,Y.S., Diagnostic value of cytopathology in Barrett esophagus and associated carcinoma, *Am. J. Clin. Pathol.*, 89 (1988) 493-498.
60. Roth,M.J., Liu,S.F., Dawsey,S.M., Zhou,B., Copeland,C., Wang,G.Q., Solomon,D., Baker,S.G., Giffen,C.A., and Taylor,P.R., Cytologic detection of esophageal squamous cell carcinoma and precursor lesions using balloon and sponge samplers in asymptomatic adults in Linxian, China, *Cancer*, 80 (1997) 2047-2059.
61. Sadowski,D.C. and Rabeneck,L., Gastric ulcers at endoscopy: brush, biopsy, or both?, *Am. J. Gastroenterol.*, 92 (1997) 608-613.

62. Savader,S.J., Prescott,C.A., Lund,G.B., and Osterman,F.A., Intraductal biliary biopsy: comparison of three techniques, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 7 (1996) 743-750.
63. Schindler,R., The endoscopic study of gastric pathology. *Gastroscopy* , 3 (1950).
64. Schoefl,R., Haefner,M., Wrba,F., Pfeffel,F., Stain,C., Poetzi,R., and Gangl,A., Forceps biopsy and brush cytology during endoscopic retrograde cholangiopancreatography for the diagnosis of biliary stenoses, *Scand. J. Gastroenterol.*, 32 (1997) 363-368.
65. Shallenberger,P.L., De Wen,C.H., Weed,C.B., and Reganis,J.C., Biopsy through the flexible operating gastroscope. *Gastroenterology* 16 (1950), 327.
66. Shimamoto,M., Watanabe,A., and Tsuneoka,K., Histological diagnosis of gastric submucosal tumor and protruding lesion simulating any submucosal tumor with particular reference to newly devised needle biopsy. *Progress of Digestive Endoscopy* 16 (1980), 22.
67. Shroff,C.P. and Nanivadekar,S.A., Endoscopic brushing cytology and biopsy in the diagnosis of upper gastrointestinal tract lesions. A study of 350 cases, *Acta Cytol.*, 32 (1988) 455-460.
68. Singh,T., Gupta,N.M., Bhasin,D.K., Rajwanshi,A., and Malik,A.K., Comparison of brush before biopsy, suction cytology, brush after biopsy and endoscopic biopsy in the diagnosis of carcinoma oesophagus, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 9 (1994) 564-566.

69. Spechler,S.J., Barrett's esophagus: should we brush off this ballooning problem?
[editorial; comment], *Gastroenterology*, 112 (1997) 2138-2142.
70. Takechi K Mihara M Saito Y Endo J Maekawa H Usui T et al., A modified technique
for endoscopic mucosal resection of small early gastric carcinomas. *Endoscopy* 24
(1992), 215-217.
71. Tanaka,M., Yokohata,K., Konomi,H., Yamaguchi,K., Chijiiwa,K., and Ohta,M.,
Segmental balloon cytology for preoperative localization of in situ pancreatic cancer,
Gastrointest. Endosc., 46 (1997) 447-449.
72. Tsang,T.K., Hidvegi,D., Horth,K., and Ostrow,J.D., Reliability of balloon-mesh
cytology in detecting esophageal carcinoma in a population of US veterans, *Cancer*, 59
(1987) 556-559.
73. Turk,D.J., Kozarek,R.A., Botoman,V.A., Patterson,D.J., and Ball,T.J., Disposable
endoscopic biopsy forceps: comparison with standard forceps of sample size and
adequacy of specimen, *J. Clin. Gastroenterol.*, 13 (1991) 76-78.
74. Tytgat,G.N. and Ignacio,J.G., Technicalities of endoscopic biopsy, *Endoscopy*, 27
(1995) 683-688.
75. Vandervoort,J., Soetikno,R.M., Montes,H., Lichtenstein,D.R., Van Dam,J.,
Ruymann,F.W., Cibas,E.S., and Carr-Locke,D.L., Accuracy and complication rate of
brush cytology from bile duct versus pancreatic duct, *Gastrointest. Endosc.*, 49 (1999)
322-327.

76. Wang,K.P., Wise,R.A., Terry,P.B., Kaplan,J., Britt,E.J., Haponik,E.F., Summer,W.R., and Marsh,B., Comparison of standard and large forceps for transbronchial lung biopsy in the diagnosis of lung infiltrates, *Endoscopy*, 12 (1980) 151-154.
77. Wilson,I.R., Oxner,R.B., Frampton,C.M., Tisch,G., Chapman,B.A., and Cook,H.B., Comparison of endoscopic forceps biopsies and capsule biopsies in determining disaccharidase activity in the duodenum, *Gastrointest. Endosc.*, 37 (1991) 527-530.
78. Witte,S. and Langer,J., [Endoscopic cytodiagnosis of the pancreas and bile ducts] Die endoskopische Zytodiagnostik des Pankreas und der Gallengänge, *Med. Klin.*, 86 (1991) 449-453.
79. Wolff,W.I. and Shinya,H., Polypectomy via the fiberoptic colonoscope. *N.Eng.J.Med.* 288 (1973), 329-332.
80. Woods,K.L., Anand,B.S., Cole,R.A., Osato,M.S., Genta,R.M., Malaty,H., Gurer,I.E., and Rossi,D.D., Influence of endoscopic biopsy forceps characteristics on tissue specimens: results of a prospective randomized study, *Gastrointest. Endosc.*, 49 (1999) 177-183.
81. Yang,R., Naritoku,W., and Laine,L., Prospective, randomized comparison of disposable and reusable biopsy forceps in gastrointestinal endoscopy, *Gastrointest. Endosc.*, 40 (1994) 671-674.
82. Yang,R., Vuitch,F., Wright,K., and McCarthy,J., Adequacy of disposable biopsy forceps for gastrointestinal endoscopy: a direct comparison with reusable forceps, *Gastrointest. Endosc.*, 36 (1990) 379-381.

10. Anhang

10.1. Lebenslauf

Name:	Philipp Becker
Geburtsdaten:	05. September 1972 in Kempten/Allgäu
Anschrift:	Prinz-Eugen-Str.6, 80804 München
Familienstand:	ledig
1979 - 1983	Volksschule Kempten
1983 - 1992	Allgäu Gymnasium Kempten
1992	Abitur
1992	Gebirgssanitäter in Kempten
1992 - 1995	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
März 1995	Ärztliche Vorprüfung
1995 - 1999	Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München
März 1996	Erster Teil der ärztlichen Prüfung
September 1998	Zweiter Teil der ärztlichen Prüfung
1998	Praktisches Jahr: <ul style="list-style-type: none">- Chirurgie, Groote Schuur Hospital, Kapstadt, Südafrika- Innere Medizin, II. und III. Medizinische Klinik, Klinikum rechts der Isar der TUM- Radiologie, Institut für Röntgendiagnostik, Klinikum rechts der Isar der TUM
November 1999:	Dritter Teil der Ärztlichen Prüfung
Januar 2000 – April 2001 Abteilung	Arzt im Praktikum am Krankenhaus Dritter Orden, Innere
Juli 2001– November 2001 Abteilung	Assistenzarzt der Privatklinik Josephinum, Chirurgische
Seit Dezember 2001	Assistenzarzt am Krankenhaus Vinzentinum, Ruhpolding

10.2. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. E. Frimberger möchte ich für die Überlassung des Themas, die Möglichkeit zur Arbeit in der II. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar sowie die Korrektur der Arbeit danken.

Mein Dank gilt meinem Bruder Dr. med. Alexander Becker, Robert Zanner, Martin Schöniger, **William Axl Rose** sowie den schönen Stimmen.