

Aus der Klinik für Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Klinikdirektorin: Prof. Dr. med. Tanja N. Fehm

Präkanzerose der Vulva – häufig Folge einer Infektion
mit dem Humanen Papillomvirus

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christoph Blazejak

2018

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin/Erstgutachter: Prof. Dr. Monika Hampl

Zweitgutachterin/Zweitgutachter: Prof. Dr. Ortwin Adams

Zusammenfassung

Hintergrund: Aktuelle Studien an kleineren Fallzahlen zeigen, dass die HPV-Assoziation der VIN und des Vulvakarzinoms altersabhängig zu sein scheint. Möglicherweise entwickeln sich Präkanzerosen und Karzinome der Vulva mit unterschiedlicher Ätiologie.

Zielsetzung: Retrospektiv sollen erhobene Befunde dahingehend ausgewertet werden, wie häufig HPV-positive Befunde bei der VIN und beim Vulvakarzinom vorliegen, ob eine Altersabhängigkeit besteht und ob das Mittellinien-nahe Vulvakarzinom der vorderen Kommissur der Vulva eine Sonderform mit eigener Ätiologie darstellt. Zudem wird ermittelt, wie hoch der Schutz einer prophylaktischen HPV-Impfung in Bezug auf vulväre prämale und maligne Läsionen ist.

Material und Methoden: Zur Durchführung der retrospektiven Datenanalyse wurden in der gynäkologischen Praxis von PD Dr. med. V. Küppers im Zeitraum 1997 bis 2012 die klinischen Daten von 589 Patientinnen erhoben. Bei der Analyse wurden folgende Faktoren untersucht: die Häufigkeit der VIN/PEC Diagnosen, die jeweiligen Anteile der negativen, low-risk-, high-risk-HPV-Infektionen, die jeweilige Lokalisation und das Patientenalter.

Ergebnisse: Unter 459 VIN fanden sich 31 (6,8%) low-risk-Infektionen, 361 (78,6%) high-risk-Infektionen und 19 (4,1%) Mischinfektionen, 48 (10,5%) waren HPV-negativ. Die häufigsten HPV-Typen waren 16 (81,5%) und 33 (8,5%).

Unter 81 PEC fanden sich 7 (8,6%) low-risk-Infektionen, 34 (42%) high-risk-Infektionen und 3 (3,7%) Mischinfektionen, 37 (45,7%) waren HPV-negativ. Die häufigsten HPV-Typen waren 16 (59,1%), 33 und 6 (jeweils 13,6%). Das Durchschnittsalter der 81 Fälle war 52,3 Jahre.

Fazit: Der Anteil der HPV-positiven VIN sowie Karzinome unterstreicht die Rolle von HPV, insbesondere HPV-16. Weiterhin gilt die VIN gemeinhin als Präkanzerose, somit zeigt sich großes Präventionspotential, die Erfolge werden in Zukunft zu evaluieren sein. Das Durchschnittsalter von 52,8 Jahren der Patientinnen mit invasiven Karzinomen unterstreicht die Tendenz zu jüngeren Patientinnen in Deutschland. Es bleibt weiterhin die Ätiologie des Karzinoms der vorderen Kommissur zu klären, ein Zusammenhang mit HPV lässt sich weder eindeutig widerlegen noch beweisen.

Abstract

Background: Current studies on relatively small case numbers show the HPV association of VIN and vulvic carcinoma to be age-dependent. Precancerous lesions and carcinomas of the vulva may possibly develop due to different etiology.

Objective: Retrospectively the collected findings are evaluated regarding the frequency of HPV-positive findings in VIN and in vulvic carcinoma, whether a clear age dependency exists and whether the vulvic carcinoma of the front commissioner of the vulva is a special form with its own etiology. In addition, the level of protection by means of a prophylactic HPV vaccination against premalignant and malignant lesions is determined.

Material and methods: In order to carry out retrospective data analysis the clinical data of 589 patients were collected in the gynecological practice of PD Dr. med. V. Küppers between 1997 and 2012. The analysis examined the following factors: frequency of VIN/PEC diagnoses, the relative proportions of negative, low-risk, high-risk HPV infections, as well as localization and the patient's age.

Results: Among the 459 VIN were 31 (6.8%) low-risk infections, 361 (78.6%) high-risk infections and 19 (4.1%) mixed infections, 48 (10.5%) were HPV-negative. The most common HPV types were 16 (81.5%) and 33 (8.5%).

Among the 81 Carcinomas were 7 (8.6%) low-risk infections, 34 (42%) high-risk infections and 3 (3.7%) mixed infections, 37 (45.7%) were HPV-negative. The most common HPV types were 16 (59.1%), 33 and 6 (13.6% each). The average age of these 81 cases was 52.3 years.

Conclusion: The contingent of HPV-positive VIN and carcinomas underscores the role of HPV, especially that of HPV-16. The VIN is generally regarded as a precancerous disease, thus possessing great prevention potential and possible successes will have to be evaluated in the future. The average age of 52.8 years for patients with invasive carcinomas emphasizes the trend towards younger patients in Germany. The etiology of the carcinoma of the anterior commissioner still requires clarification, and a link with HPV can neither be absolutely confirmed nor refuted at this point.

Abkürzungsverzeichnis

AIN Anale intraepitheliale Neoplasie

CIN Cervicale intraepitheliale Neoplasie

EGF Epidermal Growth Factor

HPV Humanes Papillom Virus

HR High-risk

HSIL High-grade squamous intraepithelial lesion

ISSVD International Society for the Study of Vulvar Disease

LR Low-risk

LS Lichen sclerosus

LSIL Low-grade squamous intraepithelial lesion

PEC Plattenepithelkarzinom

VAIN Vaginale intraepitheliale Neoplasie

VIN Vulväre intraepitheliale Neoplasie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Vulväre intraepitheliale Neoplasie (VIN) und vulvares Plattenepithelkarzinom (PEC) 1	
1.1.1	Epidemiologie.....	1
1.1.2	Risikofaktoren.....	2
1.1.3	Klassifikation	3
1.1.4	Klinik und Symptomatik.....	7
1.1.5	Diagnostik.....	7
1.1.6	Stadieneinteilung des Vulvakarzinoms.....	11
1.1.7	Therapie der VIN und des Vulvakarzinoms.....	12
1.1.8	Prognose	14
1.2	Das Humane Papillom Virus	15
1.2.1	Beschreibung	15
1.2.2	Die Infektion.....	15
1.2.3	Die Onkogenese.....	17
1.2.4	Nachweisverfahren.....	20
1.2.5	HPV-Impfung	21
2	Ziele der Arbeit	22
3	Material und Methoden.....	22
3.1	Patienten	22
3.2	Statistische Analyse	23
4	Ergebnisse	24
4.1	Die verschiedenen Diagnosen	24
4.2	Der HPV Status.....	24
4.3	Das Alter der Patientinnen	30
4.4	Die VIN 1/ HPV-assoziierte Läsion.....	31
4.5	Die VIN 2	32
4.6	Die VIN 3	34
4.7	Die high grade VIN (VIN2 und VIN 3 zusammengefasst).....	36
4.8	Das Plattenepithelkarzinom (PEC)	38
4.9	Das PEC der vorderen Kommissur.....	40
4.10	Multifokale Erkrankungen (VIN und PEC).....	41

5	Diskussion.....	42
5.1	Vulväre Intraepitheliale Neoplasie und Humane Papillomviren	43
5.1.1	<i>High-risk-HPV</i>	44
5.1.2	<i>Low-risk-HPV</i>	44
5.2	Das Entartungs- und Rezidivrisiko	45
5.3	PEC und HPV	46
5.4	Vulvakarzinom der vorderen Kommissur	47
5.5	Multifokale Läsionen (VIN und Plattenepithelkarzinome)	48
5.6	Das Alter der Patientinnen	49
5.6.1	<i>VIN</i>	49
5.6.2	<i>Plattenepithelkarzinom</i>	50
5.7	Die HPV-Impfung	50
5.7.1	<i>Potential</i>	50
5.7.2	<i>Ausblick</i>	51
6	Literaturverzeichnis	52

1 Einleitung

1.1 Vulväre intraepitheliale Neoplasie (VIN) und vulvares Plattenepithelkarzinom (PEC)

1.1.1 Epidemiologie

Das vulväre Plattenepithelkarzinom und die als Präkanzerose des Plattenepithelkarzinoms geltende vulväre intraepitheliale Neoplasie sind Erkrankungen des weiblichen Genitale mit steigender Inzidenz. Die Inzidenzrate der VIN in Deutschland wird auf 7 Neuerkrankungen pro 100.00 Frauen pro Jahr geschätzt (Papathemelis & Meinhold-Heerlein, 2012), die des Vulvakarzinoms auf 5,8 pro 100.000 Frauen pro Jahr (RKI 2014, s. Tab 1). Während 2003 die absolute Anzahl der Neuerkrankungen noch bei 1.729 lag, lag diese 2012 bei 3190 (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, 2014). Die Schätzung für 2016 beträgt 4400 Neuerkrankungen (RKI 2016, s. Tab 1)

3.15 Vulva

Tabelle 3-15.1
Übersicht über die wichtigsten epidemiologischen Maßzahlen für Deutschland, ICD-10 C51

	2011	2012	Prognose für 2016
	Frauen	Frauen	Frauen
Neuerkrankungen	3.160	3.190	4.400
rohe Erkrankungsrate ¹	7,7	7,7	10,6
standardisierte Erkrankungsrate ^{1,2}	4,6	4,5	6,1
mittleres Erkrankungsalter ³	72	72	
Sterbefälle	860	827	
rohe Sterberate ¹	2,1	2,0	
standardisierte Sterberate ^{1,2}	1,0	0,9	
5-Jahres-Prävalenz	10.900	11.200	
	nach 5 Jahren	nach 10 Jahren	
absolute Überlebensrate (2011–2012) ⁴	59 (47–70)	44 (32–53)	
relative Überlebensrate (2011–2012) ⁴	70 (58–81)	64 (50–89)	

¹ je 100.000 Personen ² altersstandardisiert nach alter Europabevölkerung ³ Median ⁴ In Prozent (niedrigster und höchster Wert der einbezogenen Bundesländer)

Tabelle 1: Daten des Robert-Koch-Instituts zum Vulvakarzinom

Sowohl bei der VIN als auch bei dem PEC wird eine Tendenz zu einem früheren Erkrankungsalter beobachtet. Während in den 1970er Jahren das mittlere

Erkrankungsalter der VIN noch bei 50 Jahren lag, ist dieses in den 2000er Jahren auf 39 Jahre gefallen (Jones, et al., 2005). Der Altersgipfel des Vulvakarzinoms liegt bei rund 65 Jahren (Costa, 2003), in den letzten Jahren zeigt sich jedoch eine deutliche Tendenz zu einem früheren Erkrankungsalter und Zunahme des Auftretens dieser Tumorentität bei jungen Frauen (Hampl, et al., 2008).

1.1.2 Risikofaktoren

Es wurden zahlreiche Risikofaktoren für das Entstehen der VIN und des PEC identifiziert. Insbesondere geht man davon aus, dass je nach Quellenlage rund 80-90% aller VIN bei prämenopausalen Frauen und rund 40 % aller invasiven Vulvakarzinome durch das HP-Virus verursacht werden (Hampl, et al., 2006). Zu weiteren Risikofaktoren der VIN bzw. des PEC der prämenopausalen Frau zählen beispielsweise der Nikotinkonsum, Immunsuppression, Bestrahlung, mangelnde Hygiene, genetische Defekte (z.B. p53 Mutationen), HIV- und andere Begleitinfektionen (Herpes, Chlamydien etc.) sowie ein niedriger sozioökonomischer Status (Zirlik, et al., 2014; Schröder, 2004; Costa, 2003). Vulvakarzinome im Alter über 65 sind meist HPV unabhängig und entstehen auf dem Boden einer chronischen Vulvahauterkrankung (Lichen sclerosus, Lichen simplex chronicus) (Zirlik, et al., 2014) oder sind Alterskarzinome.

Es wird mittlerweile davon ausgegangen, dass die steigende Inzidenz sowie das jüngere Erkrankungsalter durch die Zunahme HPV induzierter Vulvakarzinome bedingt ist und dieses durch den gesellschaftlichen Wandel der letzten Dekaden erklärt wird. So gibt es vermehrt weibliche Raucher und auch das Sexualverhalten hat sich geändert (früherer und insgesamt häufigerer Geschlechtsverkehr), sodass HPV-Infektionen begünstigt werden. Des Weiteren hat sich die Diagnostik in Bezug auf das Erkennen einer VIN (z.B. Kolposkopie) und des Karzinoms verändert (Jones, et al., 2005; Hampl, et al., 2006).

1.1.3 Klassifikation

1.1.3.1 Die Vulväre Intraepitheliale Neoplasie

Die Einteilung und Benennung der VIN hat sich in den letzten Jahren mehrfach geändert. 1986 veröffentlichte die *International Society for the Study of Vulvar Diseases* (ISSVD) eine Einteilung der Neoplasien in VIN 1, VIN 2, VIN 3. Dabei entsprach die VIN 1 einer leichten Dysplasie, die VIN 2 einer mäßiggradigen Dysplasie und die VIN 3 einer schweren Dysplasie bis hin zu einem Carcinoma in Situ (Sideri, et al., 2005). Alle drei Stadien hatten gemein, als Präkanzerose zu gelten, da die malignen Zellen nicht die Basalmembran durchbrechen (Kaufmann & Pfeleiderer, 2008). 2003 passte die WHO die bestehende Klassifikation an die Klassifikation des Zervixkarzinoms an, eine VIN 1 entsprach analog der CIN 1 Zelltypen im unteren Drittel des Epithels, eine VIN 2 Zelltypen in den unteren zwei Dritteln und eine VIN 3 Zelltypen in allen Schichten des Epithels (Sideri, et al., 2005).



Abb. 1: HPV-induzierte VIN 3 (Hampl, Frauenklinik HHU Düsseldorf)

Ab dem Jahr 2004 wurde die Klassifikation der vulvären Neoplasien von der ISSVD modifiziert. Aufgrund der Erkenntnis, dass die VIN 1 keine Präkanzerose darstellt, wurde der Terminus VIN 1 gestrichen und als HPV-assoziierte Läsion bezeichnet, VIN 2, VIN 3 sowie das Carcinoma in situ wurden unter dem Begriff *high grade* VIN zusammengefasst. Dabei beschrieb die klassische/ *usual type* VIN (u-VIN) HPV-assoziierte Neoplasien, während HPV-unabhängige Neoplasien als differenzierte VIN d-VIN) bezeichnet wurden (Heller, 2007).

2012 wurden die HPV-assoziierten Läsionen (ehemals VIN 1) in *Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* (LSIL) und das klassische VIN (ehemals VIN 2, VIN 3 und Carcinoma in situ) in *High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* (HSIL) umbenannt. Der Unterschied zwischen HSIL und LSIL besteht darin, dass sich bei der HSIL, vermehrt und in allen Epithelschichten, Mitosefiguren sowie geringere Zellausreifungen finden lassen (Darragh, et al., 2012). Eine Übersicht zur Nomenklatur zeigt Tabelle 2.

Beschreibung Quelle	Kondylomatöse Läsion	Leichte Dysplasie	Mäßiggradige Dysplasie	Schwere Dysplasie, Carcinoma in situ	HPV-neg. Plattenepithelproliferation mit abnormer Keratinocyten- Differenzierung und Basalzellatypie
WHO 2003	VIN 1		VIN 2	VIN 3	
ISSVD 2005	HPV-assoziierte Veränderungen		Klassische VIN, usual type, uVIN		Differenzierte VIN, dVIN
WHO 2014	Low-grade squamous intraepithelial lesion LSIL		High-grade squamous intraepithelial lesion HSIL		Differentiated type vulvar intraepithelial neoplasia

Tabelle 2: Nomenklatur der HPV-assoziierten Präkanzerosen der Vulva (Horn, Schnürch)

Die HPV-assoziierten Neoplasien (LSIL und HSIL/ klassische VIN/ VIN 2,3, Carcinoma in situ) finden sich eher bei jüngeren Patientinnen, multifokal sowie multizentrisch. Im Gegensatz dazu treten die HPV-negativen Läsionen (differenzierte VIN) eher bei älteren Patientinnen, unifokal sowie unizentrisch auf. Beide

Tumorformen können dabei in ein invasives Vulvakarzinom übergehen (ca. 20% (Riethdorf & Lönning, 2013), persistieren oder sich spontan zurückbilden (selten).

Eine Sonderrolle nimmt die LSIL (ehemals HPV-assoziierte Läsion/ VIN 1) ein. Grundsätzlich zeigt die LSIL/VIN 1 ein hohes Regressions- und niedriges Progressionsrisiko (Giesecking & Kühn, 2015). Des Weiteren konnte nicht sicher nachgewiesen werden, dass dieses Krankheitsbild überhaupt in eine HSIL (VIN 3/ klassische VIN) oder in ein invasives Vulvakarzinom übergeht. Weiterhin zeigt die LSIL keine histopathologischen Merkmale (vermehrte Mitosen, verminderte Zelldifferenzierung), welche auf eine Entartung hinweisen könnten (Srodon, et al., 2006). Problematisch wird die Abgrenzung wiederum, wenn *high-risk* HP-Viren in einer LSIL/VIN 1 gefunden werden, da hier die Entwicklung einer VIN/HSIL nicht ausgeschlossen werden kann. So wurden beispielsweise 2006 in einer Studie in 42% aller VIN 1 *high-risk* HPV-Viren nachgewiesen (Reichert, 2012).



Abb. 2: HPV-induzierte VIN 3 (Hampl, Frauenklinik HHU Düsseldorf)

1.1.3.2 Das Vulvakarzinom

Das invasive Vulvakarzinom ist zu über 90% ein Plattenepithelkarzinom. Die restlichen 10% entfallen auf andere Tumorentitäten, beispielsweise Adenokarzinome, das vulväre maligne Melanom, verruköse Karzinome, Basalzellkarzinome oder Sarkome

(Zirlik, et al., 2014; Baltzer, et al., 2000). Die häufigsten Unterformen des Plattenepithelkarzinoms sind das meist HPV-negative verhornende Plattenepithelkarzinom und die HPV-assoziierten kondylomatösen und basaloiden nicht verhornten Plattenepithelkarzinome. Weiterhin gibt es Mischformen sowie das NOS Plattenepithelkarzinom (*not otherwise specified* – keine der drei anderen Typen) (Riethdorf & Löning, 2013).



Abb. 3: Vulvakarzinom der vorderen Kommissur (Hampl, Frauenklinik HHU Düsseldorf)

Sowohl das HPV-assoziierte, als auch das HPV-negative, invasive Vulvakarzinom zeigen dabei einige Besonderheiten. Das HPV-assoziierte invasive Vulvakarzinom geht meist aus einer klassischen VIN/ HSIL hervor, tritt eher bei jüngeren Frauen und Zustand nach CIN oder Zervixkarzinomen (ca. 15%) auf und ist öfters multifokal. HPV-negative invasive Vulvakarzinome gehen häufiger aus einer differenzierten VIN hervor, finden sich bei Frauen mit einem Lichen sclerosus der Vulvahaut oder einer Plattenepithelhyperplasie. Des Weiteren treten sie eher bei älteren Frauen und unifokal auf (Riethdorf & Löning, 2013).

1.1.4 Klinik und Symptomatik

Sowohl die VIN als auch das PEC zeigen aufgrund ihrer verschiedenen Subtypen eine uneinheitliche Klinik und Symptomatik.

Die Symptomatik ist oft unspezifisch oder fehlt völlig (bis zu 50% der Fälle). In symptomatischen Fällen kann vulvärer Pruritus ein Symptom einer VIN sein, welcher häufig mehrere Jahre einer weiteren Symptomatik vorausgeht. Weitere Symptome sind perineale Schmerzen, Brennen, Nässen, Dysurie, Dyspareunie oder Blutungen. Oft sind die Läsionen makroskopisch sichtbar, manche können nur kolposkopisch nach Essigapplikation sichtbar sein. Es kann sich um flache oder erhabene Effloreszenzen mit weißlicher, seltener auch rötlicher oder pigmentierter/ bräunlicher Färbung handeln. Nicht selten sind diese Effloreszenzen durch Kratzspuren überlagert, dies meist bei einer dVIN. Da die Klinik nicht immer eindeutig ist, erfolgt die Differenzierung (in dVIN oder uVIN und Schweregrad) und Diagnosesicherung über die Histologie (Riethdorf & Löning, 2013; Kaufmann & Pfeleiderer, 2008; Zirlik, et al., 2014; Jentschke, et al., 2012).

Das Vulvakarzinom tritt analog der vulvären Neoplasien mit ähnlich unspezifischer Symptomatik auf und kann auch hier in ca. 50% der Fälle gänzlich fehlen. Des Öfteren suchen Patientinnen erst bei größeren Ulzerationen und Ausbreitung des Karzinoms auf Vaginal-, Anal- sowie anderen Regionen einen Arzt auf. In diesem Stadium können Fötor, Blutungen sowie inguinale Lymphknotenschwellungen die Symptomatik verstärken (Zirlik, et al., 2014). Karzinome wachsen entweder flächenhaft, blumenkohlartig oder ulzerativ. Die Einteilung der Stadien wird Anhand der FIGO- und der TNM-Klassifikation vorgenommen.

1.1.5 Diagnostik

1.1.5.1 Klinische Diagnostik

Neben Hinweisen durch die Anamnese findet die Diagnostik klinisch statt. Der Art der Erkrankung und des durchschnittlichen Patientinnenalters ist es dabei geschuldet, dass im Durchschnitt bis zu einem Jahr von Symptombeginn bis zur korrekten Diagnosestellung vergehen kann. Ursächlich sind dabei Schamgefühl der Patientinnen,

unspezifische oder fehlende Symptome, keine konsequente Vorsorgeuntersuchung oder andere, vermeintlich dringendere vorliegende Krankheitsbilder (zum Beispiel Inkontinenz, Diabetes mellitus, dermatologische Krankheitsbilder). Allerdings sind auch Verzögerungen durch den behandelnden Arzt nicht selten, beispielsweise Behandlung des Pruritus oder der Irritation mit dermatologischen Externa oder Antibiotika, ohne Durchführung einer Biopsie (Sevin, et al., 1998).

Da sich VIN und Frühstadien des PEC nur histologisch unterscheiden lassen, ist die klinische Diagnostik bei beiden Pathologien grundsätzlich gleich. Dabei muss durch das nicht selten multizentrische und multifokale Auftreten von (Prä-)Neoplasien das gesamte äußere Genitale, die Zervix, die Vagina, die Analregion sowie die Leistenregion berücksichtigt werden. Der Inspektion schließt sich die Palpation an. Verdächtig sind Unebenheiten, Verhärtungen sowie weitere Auffälligkeiten. Ulkusbildung, rasche Größenprogredienz, Verfärbungen, Blutungen sowie Asymmetrie sind dabei besonders malignitätsverdächtig (Schmidt & Mallmann, 2003). Weitere klinisch-diagnostische Maßnahmen sind unter anderem:

- Vulvoskopie und Essigsäure-Test: gründliche Inspektion analog zur Kolposkopie. Anwendung von 3-5%iger Essigsäurelösung kann sowohl hilfreich sein als auch zu unspezifischen Reaktionen führen
- Toluidinblau-Probe (Collins-Test): Das Auftragen von 1-2%iger Toluidinblaulösung und anschließendes Abwaschen mit 3%iger Essiglösung dient dem Anfärben proliferationsaktiver Gewebeareale. Aufgrund schlechter Sensitivität und Spezifität ist diese Untersuchung inzwischen obsolet
- Zytologischer Abstrich: Da die rein zytologische Untersuchung keinen sicheren Ausschluss einer malignen Entwicklung im Bereich der Vulva ermöglicht, wird sie in der Regel nicht durchgeführt



Abb. 4: Vulvakarzinom der vorderen Kommissur mit Befall der Urethra
(Hampl, Frauenklinik HHU Düsseldorf)

Eine suspekte Läsion sollte immer mittels Stanzbiopsie mit anschließender histologischer Untersuchung abgeklärt werden, bei multifokalem Auftreten müssen alle Läsionen berücksichtigt werden (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009; Schmidt & Mallmann, 2003; Küppers, 2001; Sevin, et al., 1998).

1.1.5.2 Histopathologie

Die Diagnose vulväre intraepitheliale Neoplasie oder invasives Plattenepithelkarzinom kann ausschließlich histologisch gesichert werden. Auch eine Unterscheidung zwischen LSIL/ HSIL, dVIN (uVIN; VIN 1 -3; Carcinoma in situ) ist nur histologisch möglich.

Grundsätzlich sind die histologischen Auffälligkeiten bei der differenzierten VIN subtiler und erschweren somit die Diagnosestellung (Reyes & Cooper, 2014).

Folgende Kriterien sprechen für das Vorliegen einer Neoplasie oder einer malignen Entartung des vulvären Plattenepithels (Costa, 2003),

- Vermehrte sowie atypische Mitosefiguren
- Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten der Kerne
- Hyperchromasie
- Große Nukleolen
- Riesenzellbildung
- Zellverhornung
- Basale Hyperplasie

Während bei der VIN die Basalmembran grundsätzlich intakt ist, ist diese bei dem invasiven Vulvakarzinom per definitionem durchbrochen. Das verhornende Plattenepithelkarzinom wird insbesondere durch Hornperlen gekennzeichnet, während Koilozyten fehlen (Nauth, 2014). Das basaloide Vulvakarzinom zeigt eine vor allem in der basalen Schicht lokalisierte desmoplastische Umwandlung des Epithels mit einer Anordnung in Strängen oder Nestern (Ueda, et al., 2011). Das kondylomatöse Karzinom wird durch koilozytische Zellen mit pleomorphem bis bizarrem Zellkern und teilweisen multiplen Nukleoli gekennzeichnet (Riethdorf & Löning, 2013).

Falls eine Infektion durch einen *high-risk* HPV-Typen vorliegt, ist eine immunhistochemische positive Anfärbung von p16 und ein hoher Ki-67 Proliferationsindex charakteristisch. Im Gegensatz dazu sind HPV-negative Neoplasien immunhistochemisch p16 negativ und p53 positiv (Reyes & Cooper, 2014; Riethdorf & Löning, 2013). HPV-assoziierte Läsionen mit *low-risk*-HPV Infektionen sind weder p16 noch p53 positiv, allerdings ist auch hier die Ki-67-Expression erhöht (Maniar, et al., 2013; Reichert, 2012).

1.1.6 Stadieneinteilung des Vulvakarzinoms

Die Stadieneinteilung wird entsprechend der TNM-Klassifikation (siehe Tabelle 3) und der FIGO-Klassifikation (siehe Tabelle 4) vorgenommen.

T1	auf Vulva und Perineum begrenzt
T1a	größte Ausdehnung $\leq 2\text{cm}$ und Stromainvasion $\leq 1\text{mm}$
T1b	größte Ausdehnung $> 2\text{cm}$ oder Stromainvasion $> 1\text{mm}$
T2	Infiltration von Vagina (unteres Drittel), Urethra (unteres Drittel), oder Anus
T3	Infiltration der oberen zwei Drittel von Urethra/Vagina, Blasenschleimhaut, Rektumschleimhaut, oder fixiert mit dem Beckenknochen
N0	regionäre (inguinale) Lymphknoten nicht befallen
N1a	zwei Lymphknotenmetastasen $< 5\text{mm}$
N1b	eine Lymphknotenmetastase beliebiger Größe
N2a	drei oder mehr Lymphknotenmetastasen $< 5\text{mm}$
N2b	zwei Lymphknotenmetastasen, mindestens eine $\geq 5\text{mm}$
N2c	extrakapsuläre Ausbreitung
N3	fixiert/ulzeriert
M1	Fernmetastasen (inkl. pelvine Lymphknoten)

Tabelle 3: Stadieneinteilung des Vulvakarzinoms (TNM 2010)

FIGO I	Tumor auf Vulva begrenzt
FIGO IA	auf Vulva / Perineum begrenzt, $\leq 2\text{cm}$ und Stromainvasion $\leq 1\text{mm}$, negative Lymphknoten
FIGO IB	auf Vulva / Perineum begrenzt, $> 2\text{cm}$ oder Stromainvasion $> 1\text{mm}$, negative Lymphknoten
FIGO II	Infiltration von Vagina (unteres Drittel), Urethra (unteres Drittel), oder Anus
FIGO III	regionäre Lymphknotenmetastasen (= inguinale und femorale Lymphknoten)
FIGO IIIA	(i) 1 Lymphknotenmetastase $\geq 5\text{ mm}$ oder (ii) 1-2 Lymphknotenmetastasen $< 5\text{ mm}$
FIGO IIIB	(i) 2 oder mehr Lymphknotenmetastasen $\geq 5\text{ mm}$ oder (ii) 3 oder mehr Lymphknotenmetastasen $< 5\text{ mm}$
FIGO IIIB	Positive Lymphknoten mit extrakapsulärem Befall
FIGO IV	Tumorbefall anderer regionärer Lokalisationen (obere 2/3 Urethra oder Vagina) oder Fernmetastasen
FIGO IVA	(i) Befall der oberen Urethra und/oder Mucosa der Vagina, Blase oder Rektum, oder pelvine/ossäre Fixation, oder (ii) fixierte oder ulzerierte inguinofemorale Lymphknoten
FIGO IVB	Fernmetastasen (inkl. pelvine Lymphknoten)

Tabelle 4: Stadieneinteilung des Vulvakarzinoms gemäß FIGO

1.1.7 Therapie der VIN und des Vulvakarzinoms

Die Therapie findet in einem Großteil der Frauen operativ statt. Dabei gilt insbesondere bei jüngeren Patientinnen, dass onkologisch sicher, aber trotzdem organerhaltend therapiert werden sollte. Sofern möglich, sollten Anatomie und sexuelle Funktion der Vulva erhalten werden, gegebenenfalls über plastische Rekonstruktion mittels Verschiebelappen. Gerade bei ausgedehntem, invasivem Wachstum des Tumors ist dies allerdings nicht immer möglich, aber auch hier kann teilweise eine interdisziplinäre, organerhaltende Therapie durchgeführt werden, zum

Beispiel über (Radio-)Chemotherapie oder neoadjuvante Chemotherapie ggf. gefolgt von einer Operation.

Für die Behandlung der VIN gibt es verschiedene leitliniengerechte Therapiemöglichkeiten (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009; Küppers, 2001):

- Lokale Exzision (mittels Skalpell oder Laser): eine Exzision im Gesunden sollte angestrebt werden
- Laservaporation: nach histologischem Ausschluss eines invasiven Karzinoms wird eine ablativ Therapie mittels CO₂-Lasers durchgeführt - empfohlen bei multifokalen Läsionen
- *Skinning Vulvectomy*: großflächige Hautentfernung mittels Skalpell
- Imiquimod: *off-label-use*, unterschiedliche Datenlage, teilweise vollständige Remission (Schöll, et al., 2009)

Gemessen am therapeutischen Erfolg sind Laser und Skalpell als gleichwertig zu betrachten. Mittels Lasertherapie ist allerdings ein schonenderes, weniger mutilierendes und organerhaltendes Vorgehen möglich und verringert so die Komplikationsrate, insbesondere bei größeren Befunden. Falls die Therapie nicht im Gesunden durchgeführt wird, ist die Rezidivrate hoch (Küppers, 2001).

Die operative Behandlung des invasiven Vulvakarzinoms strebt eine R0 Resektion im Gesunden an. Hier muss zwischen lokaler Exzision und partieller oder kompletter Vulvectomy abgewogen werden. Eine komplette Vulvectomy bedeutet dabei die Resektion der großen und kleinen Labien, der Klitoris sowie der äußeren Kommissur (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009). Sowohl im Stadium T1 als auch im Stadium T2 ist die radikale, lokale Exzision die Therapie der Wahl. In den Stadien T3 und T4 ist je nach Befundkonstellation statt der radikalen Vulvaresektion ein Organerhalt mittels neoadjuvanter oder primärer Radiochemotherapie (5-Fluoruracil, Cisplatin, Methotrexat oder Mitomycin) möglich (Zirlik, et al., 2014; Baltzer, et al., 2006). Neuere Forschungen zeigen weitere therapeutische Möglichkeiten auf, beispielsweise mit dem RhoA-Inhibitor Lovastatin (Wang, et al., 2015), mittels des EGFR-Inhibitors Cetuximab kombiniert mit Paclitaxel (Matsuzawa, et al., 2015) oder Gefitinib kombiniert mit Trastuzumab (Fukutome, et al.,

2006). Diese Studien sind aber alles Einzelfalluntersuchungen und deshalb keine Standardtherapie.

1.1.8 Prognose

Obwohl das invasive vulväre Plattenepithelkarzinom unter 5% der gynäkologischen Malignome ausmacht, ist es für über 90% der malignen Tumoren der Vulva verantwortlich (Judson, et al., 2006). Eine Assoziation mit vorangehenden epithelialen Neoplasien liegt dabei in bis zu rund 50-70% der Vulvakarzinomen vor (Pino, et al., 2013).

Umgekehrt entwickelt eine unbehandelte VIN 3 laut einer systematischen Literaturanalyse zu rund 9% Invasivität, eine behandelte VIN 3 zu rund 4% (Seters, et al., 2005; Sykes, et al., 2002). Die Progressionsrate wird in manchen Studien deutlich höher angesetzt, es werden beispielsweise Progressionsraten von 19% beschrieben (Crum, 1992). Insbesondere bei älteren Frauen scheint die Rate höher zu sein (Fox & Wells, 2003) und die dVIN hat neueren Studien zufolge ein deutlich höheres malignes Potential als die uVIN (32% gegenüber 4-6%) (van de Nieuwenhof, et al., 2010; Reyes & Cooper, 2014). Eine spontane Regression findet nur in 1,2% der Fälle statt (Seters, et al., 2005). Die Rezidivrate ist hoch und kann trotz angemessener Behandlung bis zu 50% betragen. (Herold, et al., 1996; Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009), diese Rezidive können auch noch nach einem Jahrzehnt und später auftreten (Athavale, et al., 2008). Die mittlere Transformationszeit in ein invasives Karzinom beträgt vier Jahre (Schnürch & Meerpohl, 2006), die Progression der dVIN scheint dabei früher einzutreten (Nieuwenhof, et al., 2011).

Der wichtigste Prognosefaktor des Vulvakarzinoms ist der Leistenlymphknotenstatus (Alkatout, et al., 2015). Die Prognose des Vulvakarzinoms ist weiterhin abhängig von Größe, Resektionsrand, multifokalem Wachstum, histologischem Tumortyp, Differenzierungsgrad, Lymphgefäßeinbrüchen, Metastasen sowie assoziierter VIN (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009). Die Rezidivrate ist dem entsprechend stark abhängig von oben genannten Faktoren (so senkt beispielweise eine R0 Resektion die Rezidivwahrscheinlichkeit um 50% (Heaps, et al., 1990)). Insgesamt betrachtet ist die Rezidivrate analog zur VIN hoch und beträgt ca. 30% mit einem durchschnittlichen Intervall von 36 Monaten (Stehman, et al., 1996).

1.2 Das Humane Papillom Virus

1.2.1 Beschreibung

Das Humane Papillom Virus (HPV) ist ein unbehülltes, ikosaedrisches DNA-Virus mit einem Durchmesser von 55nm und sein Erbgut besteht aus rund 8.000 Nukleotiden. (Grassmann, et al., 2010). Dieses Erbgut enthält sechs „early“ (Non-Struktur-) Gene (E1, E2, E4, E5, E6, E7) sowie zwei „late“ (Struktur-)Gene (L1 und L2). E1 und E2 sind für die DNA-Replikation sowie die Transkription zuständig, E4 für die Störung des Zytokeratin-Skeletts in infizierten Epithelzellen und E5, E6 sowie E7 sind virale Onkogene, welche infizierte Epithelzellen immortalisieren sowie in Tumorzellen transformieren. L1 und L2 transkribieren die Strukturproteine für das Viruskapsid (Zheng & Baker, 2006; WHO, 2005; Devaraj, et al., 2003).

Ursprünglich gehörte die Gruppe der Papillomaviren zusammen mit den Polyomaviren zu der Familie der Papovaviridae. Diese Einteilung basierte auf der Erkenntnis, dass beide Gruppen über ein ähnliches Kapsid sowie gleichermaßen über eine zyklische, doppelsträngige DNA verfügen. Allerdings stellte sich später heraus, dass Genomgröße, sowie die Nukleotid- und Aminosäuresequenz sich grundsätzlich unterscheiden. So wurden die Papillomviren sowie die Polyomaviren von der *International Committee on the Taxonomy of Viruses* (ICTV) als separate Familien eingeteilt (De Villiers, et al., 2004).

Mittlerweile wird zwischen über 100 verschiedene HPV-Typen unterschieden, wobei eine grobe Einteilung zwischen Low-risk- und High-risk-Typen vorgenommen wird (Thomas, et al., 2010).

1.2.2 Die Infektion

Die Übertragung der Viren findet von Mensch zu Mensch und durch engen Kontakt zu infiziertem Epithel statt, häufig durch Geschlechtsverkehr, und betrifft in vielen Fällen anogenitales Gewebe. Es können aber auch andere Gewebe betroffen sein, beispielsweise der Larynx (Haroske, 2009; Petersen, 2011). Nicht-sexuelle Übertragung der Viren bildet die Ausnahme. Hier handelt es sich meist um anderweitigen direkten

Hautkontakt, vertikale Übertragung oder Kontakt zu Keimträgern wie beispielsweise gemeinsam genutzte Handtücher (Frega, et al., 2003).

Die Prävalenz des HP-Virus beträgt in Deutschland bei ungeimpften Frauen laut einer Studie des Robert-Koch-Institutes 38,1% (Deleré, et al., 2014), wobei die Prävalenz eine Altersabhängigkeit zeigt: Sie erreicht ihren Höhepunkt in der Altersgruppe zwischen 20-30 Jahren und nimmt danach wieder ab (Frieze, et al., 2003), die Infektionsrate in dieser Alterskohorte liegt bei rund 25% (Herrmann & Trinkkeller, 2015). Eine Infektion heilt in der Regel zu 90% innerhalb von zwei Jahren aus (Mylonas, 2016).

Es lassen sich rund 40 Typen unterscheiden, welche für Infektionen im anogenitalen Bereich ursächlich sein können. Die High-risk-Typen (beispielsweise 16 und 18) unterscheiden sich von den Low-risk-Typen (beispielsweise 6 und 11) durch ein höheres onkogenes Potential, effektivere Übertragung, länger persistierende Infektionen sowie eine höhere Progressionsrate (Gille, et al., 2014). Zu den *low-risk* Typen gehören unter anderem HPV-3, 4, 6, 11, 19, 40, 42, 43, 44, 55, 61, 72, 74, 77, 81, 91, zu den *high-risk* Typen HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73 (de Villiers, et al., 2004).

Läuft die Erkrankung nicht asymptomatisch ab, ist die erste sichtbare Konsequenz einer anogenitalen HPV-Infektion die Entstehung der Feigwarzen (Condylomata accuminata). Weiterhin können sich neben den gutartigen Condylomen auch leicht-, mittel- oder schwergradige Dys- und Neoplasien des Epithels bilden.

Histologisch zeigt sich eine HPV-Infektion durch eine Koilozytose. Dabei handelt es sich um Keratinozyten mit einem unregelmäßigen, entrundeten Kern, einer perinukleären Aufhellung des Zytoplasmas sowie einem insgesamt verbreiterten Zytoplasmasaum.

Es gilt als erwiesen, dass das HP-Virus ursächlich ist für eine Reihe an Präkanzerosen (CIN, VAIN, VIN, AIN) und ebenso für das Plattenepithelkarzinom der Zervix sowie der Anogenitalregion. Eine Persistenz des Virus im menschlichen Körper ist dafür notwendig, die Latenzzeit von der Infektion bis zur Ausbildung invasiver Karzinom beträgt rund 15 bis 30 Jahre (Schmoll, et al., 2006). In verschiedenen Meta-Studien wurden in 89,7% der Zervixkarzinome, 84,3% der Analkarzinome, 69,9% der

Vaginalkarzinome sowie 40,4% der Vulvakarzinome High-risk HP-Viren identifiziert (Smith, et al., 2007; De Vuyst, et al., 2009).

1.2.3 Die Onkogenese

Die virale Infektion und Replikation wird durch verschiedene Mechanismen gesteuert, welche auch eine potentiell onkogene Wirkung entfalten können. Dabei handelt es sich um verschiedene mitogene (beispielsweise Resistenz gegenüber Wachstumshemmenden Hormonen, Angiogenese) sowie antiapoptotische Vorgänge. Eine wichtige Rolle spielen dabei die Proteine E5, E6 und E7 (Steger & Pfister, 2010; Hanahan, 2000).

1.2.3.1 E5

Das Protein E5 spielt eher in der frühen Karzinogenese eine Rolle, während es im weiteren Verlauf der malignen Entartung häufig aus dem HPV-Genom entfernt wird. Es wird intrazellulär an das endoplasmatische Retikulum sowie den Golgi-Apparat angegliedert. Hier entfaltet es seine mitogene Wirkung durch die Verstärkung des Epidermalen Wachstumsfaktoren (EGF), sodass es zu einer Hyperproliferation des Epithels kommt (Venuti, et al., 2011; Chen, et al., 2007). In 80% der LSIL, 90% der HSIL sowie 60% der Cervix-Karzinomen konnte die Aktivität des E5-Proteins nachgewiesen werden (Chang, et al., 2001).

1.2.3.2 E6

Das Protein E6 bindet zusammen mit dem Protein E6AP (E6-assoziiertes Protein, eine Ubiquitin-Ligase) an das Protein p53 (Huibregtse, et al., 1991). In der Folge wird p53 ubiquitiniert und anschließend proteolytisch abgebaut (Yim & Park, 2005; Scheffner, et al., 1990). Die Affinität von E6 zu p53 ist dabei von dem HPV-Typen abhängig: *low-risk* Formen von E6 binden deutlich schwächer an p53 als *high-risk* Formen von E6 und entfalten dementsprechend eine geringere onkogene Wirkung (Crook, et al., 1991). Weiterhin besitzt das high-risk Protein E6 die Fähigkeit, die Telomerase zu aktivieren

und somit die Teilungsfähigkeit einer Zelle zu verbessern (Gewin & Galloway, 2001; Klingelhutz, et al., 1996).

1.2.3.3 E7

Das Protein E7 entfaltet sein onkogenes Potential über seine Bindung an das Retinoblastom-Tumorsuppressorprotein (Rb) (Dyson, et al., 1989).

Physiologischerweise wird über die Phosphorylierung des Rb der Zellzyklus reguliert. Nicht-phosphoryliertes Rb bindet einen Komplex aus verschiedenen zellulären Transkriptionsfaktoren, welcher E2F genannt wird. Dieser steigert die Transkription von Genen, welche für die Replikation der DNA sowie von Nukleosidtriphosphaten zuständig sind. Durch die Bindung des Komplexes an das Rb-Protein wird so das Fortschreiten des Zellzyklus gestoppt.

Bindet nun E7 an nicht-phosphoryliertes Rb, kann dieses kein E2F mehr binden, es kommt zu einer vermehrten Aktivität des E2F-Komplexes. Nachfolgend tritt die Zelle in die S-Phase des Zellzyklus ein und die Zelle beginnt sich zu vermehren. Gesteigert wird dieser Effekt durch einen vermehrten Abbau von Rb. Insgesamt ist dabei die Affinität von E7 zu Rb bei *high-risk*-Typen deutlich höher als bei *low-risk*-Viren (Münger, et al., 1989; Heck, et al., 1992)

Weiterhin ist E7 in der Lage, mit den Proteinen p107, p130, p21^{Cip1} sowie p27^{Kip1} zu interagieren. Diese inhibieren unter anderem einen CDK/Cyclin-Komplex, welcher Rb phosphoryliert, damit der Zellzyklus voranschreitet. Die Wirkung dieser Proteine ist also analog des nicht-phosphorylierten Rb hemmend auf den Zellzyklus. Durch die Interaktion mit E7 verlieren sie ihre inhibierende Wirkung auf den CDK/Cyclin-Komplex und somit ihre inhibierende Wirkung auf den Zellzyklus (Steger & Pfister, 2010).

Durch diese deregulierenden Mechanismen der Proteine E5, E6 und E7 auf den Zellzyklus ist somit eine generelle proliferative, antiapoptotische Wirkung der Human-Papillom-Viren auf die Keratozyten möglich. Dies bewirkt eine effektivere Vermehrung der Viren, welche für ihre Replikation auf die Proliferation der Keratozyten angewiesen sind. In der Folge kommt es insbesondere bei *high-risk*-Viren zur Immortalisierung und

anschließend zur Entartung der betroffenen Keratozyten durch genetische Instabilität sowie effektiver Inhibierung von Tumorsuppressoren (Münger, et al., 2004).

1.2.3.4 Unterschied zwischen high-risk- und low-risk-Typen

Das geringere Risiko einer malignen Entartung bei einer Infektion mit einem low-risk-Typen erklärt sich durch die veränderten Wirkungsmechanismen der viralen Proteine. So bindet das Protein LR-HPV-E7 zwar ebenfalls Rb, allerdings mit einer 10-fach geringeren Affinität (Heck, et al., 1992). Weiterhin bindet das LR-HPV-E6 mit einer deutlich geringeren Affinität an p53 (ohne es allerdings abzubauen) als das HR-HPV-E6 und es aktiviert nur insuffizient die Telomerase (Li & Coffino, 1996; Klingelhutz, et al., 1996).

1.2.3.5 Die virale Integration

Während ein großer Teil der HPV-induzierten intraepithelialen Läsionen spontan ausheilt, geht nur ein kleiner Teil in ein invasives Karzinom über. Der entscheidende Faktor für den Progress der Erkrankung ist hier die Integration der viralen DNA in die der Keratozyten. Zu Beginn der Infektion befindet sich die virale DNA in Episomen im Zytosol der Zelle. Diese wird im Verlauf der Infektion in die Chromosomen der Wirtszelle integriert, die Integration findet dabei an den fragilen Stellen des menschlichen Genoms statt (Thorland, et al., 2003). Außerdem verläuft die Integration nicht vollständig, sondern nach einem bestimmten Muster: während ein Teil des E2-Gens deletiert wird, findet regelmäßig eine komplette Integration der E6- und E7-Gene statt. Weiterhin wird eine anschließend erhöhte Expression von E6 und E7 beschrieben (Baker, et al., 1987; Jeon & Lambert, 1995).

In der Folge kommt es zu einer vermehrten Expression viraler Gene, da E2 unter anderem eine Suppression des viralen Promotors zugeschrieben wird (Thierry & Yaniv, 1987). Insbesondere die vermehrte Expression von E6 und E7 verschafft dem Virus mit integrierter DNA (anstatt episomaler DNA) einen Überlebensvorteil, fördert aber auch gleichzeitig die Entwicklung von malignen Entartung (Jeon, et al., 1995).

Studienzahlen decken sich mit dieser Erkenntnis: So wurden in einer Studie in

0% der untersuchten CIN 1, 5% der CIN 2, 16% der CIN 3 und 88% der Cervix-Karzinome in die Wirtschromosomen integriertes HPV-Erbgut gefunden (Klaes, et al., 1999).

1.2.4 Nachweisverfahren

Sowohl prognostisch als auch therapeutisch nimmt die Kenntnis des HPV-Status einen hohen Stellenwert ein. Bedeutend ist dabei sowohl die Unterscheidung zwischen *low-risk*- und *high-risk*-Infektionen, als auch die Feststellung des genauen Typs (so beispielsweise Typ 16). Hierfür stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung (Lellé & Küppers, 2014):

Etabliert und von hoher klinischer Relevanz ist der Hybrid-Capture-II-Test, ein signalamplifizierendes Hybridisierungsassay. Zunächst wird die virale DNA freigesetzt, denaturiert und mit HPV-RNA Sonden hybridisiert, sodass DNA-RNA-Hybride entstehen. Anschließend werden diese Hybride sowohl mittels spezifischer stationärer Antikörper fixiert als auch mittels spezifischer Antikörper-Alkalische-Phosphatase-Konjugate an Alkalische Phosphatase gebunden. Die Nachweisreaktion findet schließlich mit Chemolumineszenz statt: Durch die Hinzugabe spezifischer Substrate wird Licht emittiert und gemessen, durch den Vergleich mit standardisierten Proben lässt sich ein positives oder negatives Ergebnis feststellen.

Der Test kann lediglich zwischen LR-HPV und HR-HPV unterscheiden: Die Sonde A reagiert mit HPV-Typ 6, 11, 42, 43, 44, die Sonde B mit HPV-Typ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68. Eine genauere Differenzierung der Typen ist mit diesem Nachweisverfahren nicht möglich, die Viruslast wird ebenfalls nicht erfasst.

Für die Erfassung eines konkreten HPV-Typen wird auf die Signalamplifikation mittels PCR zurückgegriffen.

1.2.5 HPV-Impfung

Zur Prophylaxe einer HPV-Infektionen besteht die Möglichkeit einer Impfung gegenüber den gängigsten HPV-Typen. Der Inhalt besteht in erster Linie aus Virosomen, bestehend aus L1, dem Hauptkapsidprotein der Humanen Papillom Viren. Während es vereinzelt zu leichten, impftypischen Nebenwirkungen kommen kann (Fieber, grippeähnliche Symptome, Beschwerden an der Impfstelle), werden in sehr seltenen Fällen auch schwere oder dauerhaften Nebenwirkungen beobachtet. Aktuell stehen die Impfstoffe Gardasil® und Cervarix® sowie Gardasil 9® zur Verfügung. Cervarix® stellt eine Impfung gegenüber den HR-HPV-Typen 16 und 18 dar, welche zu ca. 70% mit Karzinomen des Genitaltrakts assoziiert werden. Gardasil® ist darüber hinaus noch gegenüber den LR-HPV-Typen 6 und 11 wirksam, welche zu ca. 90% mit genitalen Condylomata assoziiert werden. Cervarix® schützt in Studien zu rund 94% vor persistierenden HPV16/18 positiven Infektionen, Gardasil® zu rund 89%, beide Impfstoffe bieten nahezu 100% Schutz gegenüber HPV16/18 positiven CIN (Harper, et al., 2006; Villa, et al., 2005).

Der im Juni 2015 in der EU neu zugelassene nonavalente Impfstoff Gardasil 9® bietet Schutz gegenüber den Typen 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58. In einer Studie konnte eine deutliche Wirksamkeit (über 95%) des Impfstoffes gegen diese HPV-Typen nachgewiesen werden, sowie eine deutliche Reduktion der damit assoziierten Neoplasien gegenüber einer Impfung mit dem tetravalenten Impfstoff Gardasil® (Joura, et al., 2015).

Da die Impfung einen rein präventiven Charakter hat, ist sie vor einer möglichen HPV-Infektion, also vor dem ersten Geschlechtsverkehr durchzuführen. Die Ständige Impf-Kommission (STIKO) des Robert-Koch-Instituts empfiehlt eine zweifache Impfung zwischen 9 und 14 und eine dreifache Impfung im Alter zwischen 15 und 17 Jahren. In dieser Altersgruppe ist die Impfung eine Kassenleistung.

2 Ziele der Arbeit

Die Infektion des Genitoanaltraktes mit humanen Papillomaviren (HPV) kann zu prämaligen und malignen Veränderungen führen. Am besten untersucht ist der Zusammenhang zwischen einer genitalen HPV-Infektion und der Entwicklung des Zervixkarzinoms. Zunehmend erkranken junge Frauen in der dritten und vierten Lebensdekade an prämaligen (vulväre intraepitheliale Neoplasie, VIN) und malignen Veränderungen der Vulva. Diese Beobachtung ist umso erstaunlicher, da das Vulvakarzinom bislang als typisch für die ältere Patientin galt. Aktuelle Studien an kleineren Fallzahlen zeigen, dass die HPV-Assoziation der VIN und des Vulvakarzinoms altersabhängig zu sein scheint. Möglicherweise entwickeln sich Präkanzerosen und Karzinome der Vulva mit unterschiedlicher Ätiologie.

Retrospektiv sollen erhobene Befunde dahingehend ausgewertet werden, wie häufig HPV-positive Befunde bei der VIN und beim Vulvakarzinom vorliegen und ob eine Altersabhängigkeit tatsächlich besteht. Die vorliegende Untersuchung könnte klären, ob das Mittellinien-nahe Vulvakarzinom der vorderen Kommissur der Vulva eine Sonderform mit eigener Ätiologie darstellt (Reuschenbach, et al., 2013). Zudem wird zu ermitteln sein, wie hoch der Schutz einer prophylaktischen HPV-Impfung in Bezug auf vulväre prämale und maligne Läsionen ist.

3 Material und Methoden

3.1 Patienten

Zur Durchführung der retrospektiven Datenanalyse wurden in der gynäkologischen Praxis von PD Dr. med. V. Küppers die klinischen Daten von 589 Patientinnen erhoben. Der Zeitraum belief sich dabei von 1997 bis 2012. Die Daten wurden im Rahmen der gynäkologischen Routineuntersuchung erhoben.

Bei den erhobenen Daten handelte es sich um das Alter, Zeitpunkt der Diagnosestellung, die Lokalisation der Läsion, die histologische Differenzierung sowie den HPV-Status der untersuchten Patientinnen. Die histologische Differenzierung war dabei gemäß WHO 2003 Nomenklatur VIN 1, VIN 2, VIN 3 und Plattenepithelkarzinom.

Des Weiteren wurden die Nomenklaturen gemäß der ISSVD 2005 (HPV-assoziierte Veränderungen/ Klassische VIN, undifferenzierte VIN/ Differenzierte VIN) sowie der WHO 2014 (*Low-grade squamous intraepithelial lesion LSIL/ High-grade squamous intraepithelial lesion HSIL/ Differentiated type vulvar intraepithelial neoplasia*) verwendet (siehe Tabelle 2).

War die Diagnosestellung nicht exakt möglich, wurde vom geringeren Schweregrad ausgegangen (zum Beispiel wurde VIN 2 bis 3 als VIN 2 ausgewertet). Bei der Untersuchung des HPV-Status wurde nach Möglichkeit der genaue HPV-Typ bestimmt sowie eine Differenzierung zwischen *low-risk* (HPV-3, 4, 6, 11, 19, 40, 42, 43, 44, 55, 61, 72, 74, 81, 91) und *high-risk* (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73) Typ durchgeführt (de Villiers, et al., 2004). Ebenfalls erfasst wurden Mischinfektionen sowie Mehrfacherkrankungen. Im Falle einer Mehrfacherkrankung wurde in der Regel der höhere Schweregrad ausgewertet (zum Beispiel VIN 1 und VIN 3 wurden als VIN 3 ausgewertet)

Die gesammelten Daten wurden in einer Tabelle gesammelt und schließlich mittels der Statistikanwendung „SPSS“ ausgewertet.

Diese retrospektive Datenanalyse hat ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Nr. 4536 erhalten.

3.2 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mittels der Anwendung „SPSS“ Version 21 sowie Version 23.

Bei der Analyse wurden folgende Faktoren untersucht: Patientinnenalter, Diagnose, Lokalisation sowie HPV-Status. Ebenfalls berücksichtigt wurden dabei Misch- sowie Mehrfachinfektionen.

Es wurden die Häufigkeiten der VIN/PEC Diagnosen erfasst, die jeweiligen Anteile der negativen, *low-risk*-, *high-risk*-HPV-Infektionen sowie die jeweilige Lokalisation bestimmt und dabei das Patientenalter berücksichtigt. Bei Letzterem wurden deskriptive Verfahren wie Mittelwerte, Minimum und Maximum angewendet.

4 Ergebnisse

4.1 Die verschiedenen Diagnosen

Von 589 Patientinnen hatten 544 Patientinnen eine oder mehrere der für diese Arbeit relevanten Diagnosen (VIN1/2/3 sowie PEC). Bei den restlichen 45 Patientinnen wurde eine für diese Arbeit irrelevante Diagnose gestellt (beispielsweise AIN, CIN oder VAIN). Weiterhin konnte bei 4 (1 VIN, 3 PEC) Patientinnen kein HPV-Status ermittelt werden. Bei den verbleibenden 540 Patientinnen verteilen sich 26 Fälle (4,8%) auf das VIN 1, 61 Fälle (11,3%) auf das VIN 2, 372 Fälle (68,9%) auf das VIN 3 sowie 81 Fälle (15,0%) auf das PEC.

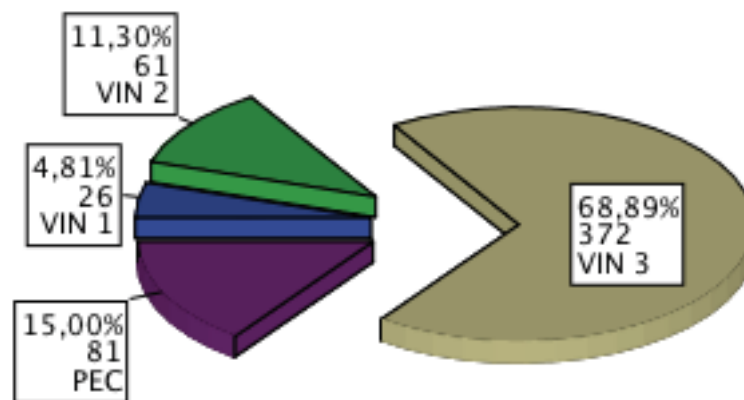


Abb. 5: Verteilung der Diagnosen

Die folgenden Ergebnisse beziehen sich auf diese 540 Patientinnen mit relevanten Diagnosen sowie bekanntem HPV-Status.

4.2 Der HPV Status

Unter den 540 Patientinnen lagen 455 (84,3% der Patientinnen) positive HPV Befunde vor. In den folgenden Tabellen werden die einzelnen Fälle nach HPV-Befund (negativ Infektion mit einem low-risk-Typen, Infektion mit einem high-risk-Typen, Infektion mit

mehreren Typen – Mischinfektion) sowie nach Diagnose (VIN 1, VIN 2, VIN 3, PEC) aufgeschlüsselt.

		Diagnose				
		VIN 1	VIN 2	VIN 3	PEC	Gesamt
negativ	Anzahl	5	8	35	37	85
	Anzahl der Spalten (%)	19,2%	13,1%	9,4%	45,7%	15,7%
low-risk	Anzahl	11	7	13	7	38
	Anzahl der Spalten (%)	42,3%	11,5%	3,5%	8,6%	7,0%
high-risk	Anzahl	9	43	309	34	395
	Anzahl der Spalten (%)	34,6%	70,5%	83,1%	42,0%	73,1%
Mischinfektion	Anzahl	1	3	15	3	22
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	4,9%	4,0%	3,7%	4,1%
Gesamt	Anzahl	26	61	372	81	540
	Anzahl der Spalten (%)	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 5: Die einzelnen Diagnosen und die jeweiligen Fälle an HPV-Infektionen

Die HPV Typisierung ergab folgende Verteilung: Von den 540 Patientinnen waren dies 353 HPV 16-positive Befunde (65,4%), 40 HPV 33-positive Befunde (7,4%), 27 HPV 6-positive Befunde (5,0%), 19 HPV 42-positive Befunde (3,5%), 14 HPV 31-positive Befunde (2,6%), 9 HPV 18-positive Befunde (1,7%), 7 HPV 11-positive Befunde (1,3%), jeweils 5 (0,9%) HPV 45- und HPV 35-positive Befunde.

Die HPV-Typen 91, 53, 52 und 44 kamen jeweils 4-mal (0,7%), die HPV-Typen 43, 56, 61, 66 und 68 jeweils 3-mal (0,6%), die HPV-Typen 39, 51, 55, 58, 73 und 81 jeweils 2-mal (0,4%) und die HPV-Typen 3, 4, 19, 40, 59, 67, 72 und 74 jeweils 1-mal (0,2%) vor. Teilweise lagen Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 540 überschritten wird.

Wie oben bereits beschrieben war in 4 Fällen keine eindeutige Zuordnung zu einem HPV-Typen möglich. Diese Fälle wurden bei der Berechnung nicht mitberücksichtigt.

Insgesamt wurden 32 verschiedene HPV Typen beobachtet. Ein negativer Befund lag bei 85 (15.7%) der untersuchten Patientinnen vor.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
Gesamt	540	100,0%
negativ	85	15,7%
16	353	65,4%
18	9	1,7%
31	14	2,6%
33	40	7,4%
35	5	0,9%
45	5	0,9%
52	4	0,7%
53	4	0,7%
6	27	5,0%
11	7	1,3%
42	19	3,5%
44	4	0,7%
91	4	0,7%

Tabelle 6: Eine Übersicht der Häufigsten HPV-Typen

Bei Betrachtung der jeweiligen (schwerwiegendsten) Hauptdiagnose, ergab sich von 372 Patientinnen mit einem VIN 3 in 288 Fällen (77,4%) ein positiver HPV 16 Befund und in weiteren 24 Fällen (6,5%) ein positiver HPV 33 Befund. In 35 VIN 3 - Fällen (9,4%) konnte kein HPV identifiziert werden. Im Falle des Plattenepithelkarzinoms zeigte sich in 26 (32,1%), 6 (7,4%), 37 (45,7%), Fällen ein HPV 16 bzw. 33 positiver oder HPV negativer Befund. Weitere Werte können der folgenden Tabelle 8 entnommen werden.

		Diagnose				
		VIN 1	VIN 2	VIN 3	PEC	Gesamt
Gesamt	Anzahl	26	61	372	81	540
	Anzahl der Spalten (%)	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

negativ	Anzahl	5	8	35	37	85
	Anzahl der Spalten (%)	19,2%	13,1%	9,4%	45,7%	15,7%
16	Anzahl	5	34	288	26	353
	Anzahl der Spalten (%)	19,2%	55,7%	77,4%	32,1%	65,4%
18	Anzahl	1	3	5	0	9
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	4,9%	1,3%	0,0%	1,7%
31	Anzahl	1	2	9	2	14
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	3,3%	2,4%	2,5%	2,6%
33	Anzahl	2	8	24	6	40
	Anzahl der Spalten (%)	7,7%	13,1%	6,5%	7,4%	7,4%
35	Anzahl	1	0	4	0	5
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	0,0%	1,1%	0,0%	0,9%
39	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
45	Anzahl	0	1	3	1	5
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	1,6%	0,8%	1,2%	0,9%
51	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
52	Anzahl	0	0	3	1	4
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,8%	1,2%	0,7%
53	Anzahl	0	2	0	2	4
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	3,3%	0,0%	2,5%	0,7%
56	Anzahl	0	0	2	1	3
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	1,2%	0,6%
58	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
59	Anzahl	0	0	1	0	1

	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
66	Anzahl	0	0	1	2	3
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	2,5%	0,6%
67	Anzahl	0	1	0	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	1,6%	0,0%	0,0%	0,2%
68	Anzahl	0	1	1	1	3
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	1,6%	0,3%	1,2%	0,6%
73	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
3	Anzahl	0	0	1	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
4	Anzahl	0	0	1	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
6	Anzahl	4	6	7	6	23
	Anzahl der Spalten (%)	15,4%	9,8%	1,9%	7,4%	4,3%
11	Anzahl	1	0	5	1	7
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	0,0%	1,3%	1,2%	1,3%
19	Anzahl	0	0	1	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
40	Anzahl	1	0	0	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%
42	Anzahl	5	3	8	2	18
	Anzahl der Spalten (%)	19,2%	4,9%	2,2%	2,5%	3,3%
43	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
44	Anzahl	1	0	2	1	4

	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	0,0%	0,5%	1,2%	0,7%
55	Anzahl	0	0	0	1	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,0%	1,2%	0,2%
61	Anzahl	1	1	1	0	3
	Anzahl der Spalten (%)	3,8%	1,6%	0,3%	0,0%	0,6%
72	Anzahl	0	0	1	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
74	Anzahl	0	0	1	0	1
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%
81	Anzahl	0	0	2	0	2
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,4%
91	Anzahl	0	1	3	0	4
	Anzahl der Spalten (%)	0,0%	1,6%	0,8%	0,0%	0,7%

Tabelle 7: Verteilung der HPV-Typen auf die einzelnen Diagnosen

Unterteilte man die Fälle in Gruppen anhand der HPV-Genotypen, zeigten sich neben 85 negativen Fällen (15,7%), 38 *low-risk*-Fälle (7,0%), 395 *high-risk*-Fälle (73,1%) sowie 22 Fälle (4,1%) mit Mischinfektionen (sowohl *low*- als auch *high-risk*). Differenzierte man ausschließlich zwischen *low*- und *high-risk*-Fällen, waren von den 455 HPV-positiven Patientinnen 60 (13,2%) von einer Infektion mit einem *low-risk*-Typen und 417 Patientinnen (91,6%) mit einem *high-risk*-Typen des Humanen Papillom Virus betroffen. Dementsprechend waren davon 22 Patientinnen (4,8%) sowohl mit einem *low-risk* als auch mit einem *high-risk* Virus infiziert. Die Zahlen für die gesamte Kohorte von 540 Patientinnen können der folgenden Tabelle 9 entnommen werden.

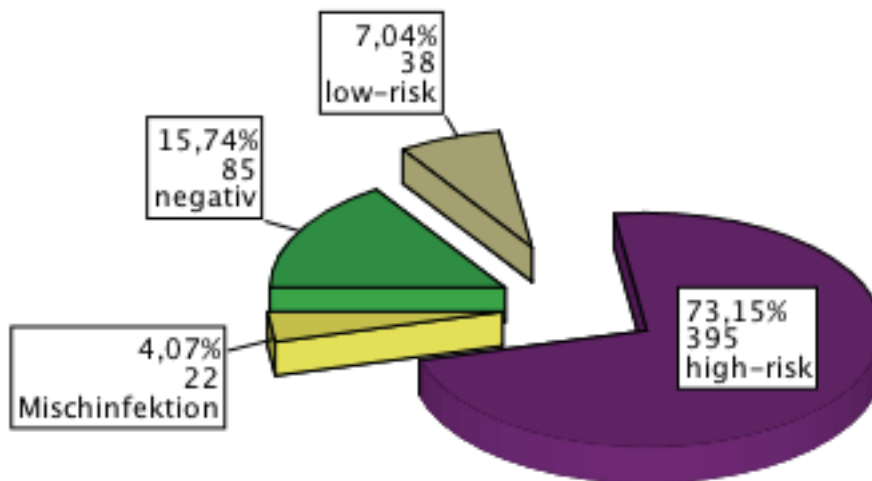


Abb. 6: Einteilung der Patientinnen nach HPV negativ/ *low-risk*/ *high-risk*/ Mischinfektion

Es lagen 53 Fälle mit einer Infektion von zwei oder mehreren verschiedenen HPV-Typen, also Mehrfachinfektionen, vor. Darunter fanden sich bei 38 Patientinnen (71,7%) HPV-Typ 16, jeweils bei 11 Patientinnen (20,8%) der HPV-Typ 31 und 42, in 8 Fällen (15,1%) der HPV-Typ 8 sowie in 9 Fällen (17%) der HPV-Typ 33. Die restlichen Fälle entfallen auf die HPV-Typen 44, 53 und 91 (jeweils 4 Fälle oder jeweils 7,5%); 11 und 45 (jeweils 3 Fälle oder jeweils (5,7%); 11, 35, 43, 52, 56, 73 und 81 (jeweils zwei Fälle oder 3,8%) sowie 3, 18, 39, 40, 43, 51, 58, 59, 61, 66 und 74 (jeweils ein Fall oder jeweils 1,9%).

4.3 Das Alter der Patientinnen

Das Durchschnittsalter aller Patientinnen betrug 47,7 Jahre.

Verteilt auf die einzelnen Diagnosen ergibt sich das in der folgenden Tabelle dargestellte Bild. Der Mittelwert des Alters betrug bei der VIN 1 45,7 Jahren, bei der VIN 2 41,6 Jahren, bei der VIN 3 47,8 Jahren und beim PEC 52,3 Jahre. Nichts desto trotz zeigten sich auch deutliche Abweichungen von diesen Werten, beispielsweise wurde eine HPV-negative VIN 3 bei einer 19-jährigen Patientin sowie ein HPV 33-positives PEC bei einer 78-jährigen Patientin beobachtet.

Altersangaben in Jahren	Diagnose			
	VIN 1	VIN 2	VIN 3	PEC
Anzahl	26	61	372	81
Mittelwert in Jahren	45,7	41,6	47,8	52,3
Standardabweichung	15,3	11,0	12,3	15,1
Maximum	72	67	85	83
Minimum	20	19	19	19

Tabelle 8: Alter der Patientinnen in Jahren verteilt auf die verschiedenen Diagnosen

4.4 Die VIN 1/ HPV-assoziierte Läsion

Es lagen 26 Fälle mit einer VIN 1/ HPV-assoziierten Veränderung/ *Low-grade squamous intraepithelial lesion* (LSIL) vor. In 5 Fällen (19,2%) konnte keine HPV-Infektion, in 11 Fällen (42,3%) ein *low-risk*-Typ und in 9 Fällen (34,6%) ein *high-risk*-Typ nachgewiesen werden. Dabei lag in einem Fall (3,8%) eine Mischinfektion mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor. Betrachtete man nur die mit dem HPV infizierten Patientinnen, ergab dies einen Anteil von 57,1% *low-risk*-Typen (HPV-11, 40, 42, 44, 6, 61) und 42,6% *high-risk*-Typen (HPV-16, 18, 31, 33, 35). Teilweise lagen Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 26 überschritten wurde. Die jeweilige Verteilung kann der folgenden Tabelle (Tab. 11) entnommen werden.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
Gesamt	26	100,0%
negativ	5	19,2%
16	5	19,2%
18	1	3,8%
31	1	3,8%
33	2	7,7%
35	1	3,8%
6	4	15,4%
11	1	3,8%
40	1	3,8%
42	5	19,2%

44	1	3,8%
61	1	3,8%

Tabelle 9: HPV-Verteilung der VIN 1/ HPV-assoziierten Läsionen

Bei einer Aufteilung der an einer VIN 1 erkrankten Patientinnen in zwei Gruppen, älter und jünger als 56 Jahre, waren 17 der 19 (89,5%) der unter 56-Jährigen mit dem Humanen Papillom Virus infiziert. Dabei lagen in 9 Fällen (47,4%) eine Infektion mit einem *low-risk*-Virus vor, in 7 Fällen (36,8%) ein *high-risk*-Virus. In einem Fall (5,3%) lag eine Mischinfektion mit mehreren HPV-Genotypen vor.

Unter den über 56-jährigen Patientinnen traten in 4 der 7 Fällen (57,1%) Infektionen mit dem HPV-Virus auf. Hier waren sowohl 2 Patientinnen (28,6%) mit einem *low-risk*- als auch 2 Patientinnen (28,6%) mit einem *high-risk*-Virus infiziert.

	Alter					
	jünger als 56 Jahre		56 Jahre oder älter		Gesamt	
	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
negativ	2	10,5%	3	42,9%	5	19,2%
low-risk	9	47,4%	2	28,6%	11	42,3%
high-risk	7	36,8%	2	28,6%	9	34,6%
Mischinfektion	1	5,3%	0	0,0%	1	3,8%
Gesamt	19	100,0%	7	100,0%	26	100,0%

Tabelle 10: HPV-Status und Alter der Patientinnen bei VIN 1

4.5 Die VIN 2

Es lagen 61 Fälle mit der Hauptdiagnose VIN 2 vor. In 8 Fällen (13,1%) konnte keine HPV-Infektion, in 7 Fällen (11,5%) ein *low-risk*-Typ und in 43 Fällen (70,5%) ein *high-risk*-Typ nachgewiesen werden. In 3 Fällen (4,9%) lagen Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor. Betrachtete man nur die mit dem HPV infizierten Patientinnen, ergab dies einen Anteil von 18,9% *low-risk*-Typen (HPV-6, 42, 61, 91) und 86,8% *high-risk*-Typen (HPV-16, 18, 31, 33, 45, 53, 67, 68). Teilweise lagen

Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 61 überschritten wurde. Die jeweilige Verteilung kann der folgenden Tabelle entnommen werden.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
Gesamt	61	100,0%
negativ	8	13,1%
16	34	55,7%
18	3	4,9%
31	2	3,3%
33	8	13,1%
45	1	1,6%
53	2	3,3%
67	1	1,6%
68	1	1,6%
6	6	9,8%
42	3	4,9%
61	1	1,6%
91	1	1,6%

Tabelle 11: HPV-Verteilung bei der VIN 2

Bei einer Aufteilung der an einer VIN 2 erkrankten Patientinnen in zwei Gruppen, älter und jünger als 56 Jahre, waren 47 der 52 (90,4%) der unter 56-Jährigen mit dem Humanen Papillom Virus infiziert. Dabei lagen in 4 Fällen (7,7%) eine Infektion mit einem *low-risk*-Virus vor und in 40 Fällen (76,9%) ein *high-risk*-Virus. In 3 Fällen (5,8%) lagen Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor.

Unter den über 56-jährigen Patientinnen traten in 6 von 8 Fällen (75%) Infektionen mit dem HPV-Virus auf. Hier waren sowohl 3 Patientinnen (37,5%) mit einem *low-risk*-, als auch 3 Patientinnen (37,5%) mit einem *high-risk*-Virus infiziert. In einem Fall war das Alter der Patientin unbekannt, dieser Fall fehlt in der Tabelle 14. Es lagen keine Mischinfektionen vor.

	Alter					
	jünger als 56 Jahre		56 Jahre oder älter		Gesamt	
	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
negativ	5	9,6%	2	25,0%	7	11,7%
low-risk	4	7,7%	3	37,5%	7	11,7%
high-risk	40	76,9%	3	37,5%	43	71,7%
Mischinfektion	3	5,8%	0	0,0%	3	5,0%
Gesamt	52	100,0%	8	100,0%	60	100,0%

Tabelle 12: HPV-Status und Alter der Patientinnen bei VIN 2

4.6 Die VIN 3

Es lagen 372 Fälle mit der Hauptdiagnose VIN 3 vor. In 35 Fällen (9,4%) konnte keine HPV-Infektion, in 13 Fällen (3,5%) ein *low-risk*-Typ und in 309 Fällen (83,1%) ein *high-risk*-Typ nachgewiesen werden. Es lagen in 15 Fällen (4,0%) Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor. Betrachtete man nur die mit dem HPV infizierten Patientinnen, ergab dies einen Anteil von 8,3% *low-risk*-Typen (HPV-3, 6, 11, 19, 42, 43, 44, 61, 72, 74, 81, 91) und 96,1% *high-risk*-Typen (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73). Teilweise lagen Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 372 überschritten wurde. Die jeweilige Verteilung kann der folgenden Tabelle entnommen werden.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
Gesamt	372	100,0%
negativ	35	9,4%
16	287	77,2%
18	5	1,3%
31	9	2,4%
33	24	6,5%
35	4	1,1%
39	2	0,5%
45	3	0,8%
51	2	0,5%
52	3	0,8%

56	2	0,5%
58	2	0,5%
59	1	0,3%
66	1	0,3%
68	1	0,3%
73	2	0,5%
3	1	0,3%
6	7	1,9%
11	5	1,3%
19	1	0,3%
42	8	2,2%
43	2	0,5%
44	2	0,5%
61	1	0,3%
72	1	0,3%
74	1	0,3%
81	2	0,5%
91	3	0,8%

Tabelle 13: HPV-Verteilung bei der VIN 3

Bei einer Aufteilung der an einer VIN 3 erkrankten Patientinnen in zwei Gruppen, älter und jünger als 56 Jahre, waren 257 der 283 (90,8%) der unter 56-Jährigen mit dem Humanen Papillom Virus infiziert. Dabei lag in 8 Fällen (2,8%) eine Infektion mit einem *low-risk*-Virus vor, in 237 Fällen (83,7%) mit einem *high-risk*-Virus. In 12 Fällen (4,2%) lagen Mischinfektionen mit mehreren HPV-Genotypen vor.

Unter den über 56-jährigen Patientinnen traten in 80 von 89 Fällen (89,9%) Infektionen mit dem HPV-Virus auf. Hier waren 5 Patientinnen (5,6%) mit einem *low-risk*- und 72 Patientinnen (80,9%) mit einem *high-risk*-Virus infiziert. In 3 Fällen (3,4%) lagen Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor.

	Alter					
	jünger als 56 Jahre		56 Jahre oder älter		Gesamt	
	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
negativ	26	9,2%	9	10,1%	35	9,4%
low-risk	8	2,8%	5	5,6%	13	3,5%

high-risk	237	83,7%	72	80,9%	309	83,1%
Mischinfektion	12	4,2%	3	3,4%	15	4,0%
Gesamt	283	100,0%	89	100,0%	372	100,0%

Tabelle 14: HPV-Status und Alter der Patientinnen bei VIN 3

4.7 Die high grade VIN (VIN2 und VIN 3 zusammengefasst)

Es lagen 433 Fälle mit der Hauptdiagnose high grade VIN vor. In 43 Fällen (9,9%) konnte keine HPV-Infektion, in 20 Fällen (4,6%) ein *low-risk*-Typ, in 352 Fällen (81,1%) ein *high-risk*-Typ und in 18 (4,1) Fällen eine Mischinfektion mit sowohl low- als auch high-risk-Genotypen nachgewiesen werden.

Dies entspricht einem Anteil von 90,1% an *High-grade squamous intraepithelial lesion* (HSIL) beziehungsweise undifferenzierten VIN sowie 9,9% an *Differentiated type vulvar intraepithelial neoplasia* beziehungsweise differenzierten VIN.

Betrachtete man nur die mit dem HPV infizierten Patientinnen, ergab dies einen Anteil von 9,7% *low-risk*-Typen (HPV-3, 6, 11, 19, 42, 43, 44, 61, 72, 74, 81, 91) und 94,9% *high-risk*-Typen (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73).

Teilweise lagen Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 433 überschritten wurde. Die jeweilige Verteilung kann der folgenden Tabelle entnommen werden.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
	433	100,0%
neg	43	9,9%
16	321	74,1%
18	8	1,8%
31	11	2,5%
33	32	7,4%
35	4	0,9%
39	2	0,5%
45	4	0,9%
51	2	0,5%
52	3	0,7%

56	2	0,5%
58	2	0,5%
59	1	0,2%
66	1	0,2%
67	1	0,2%
68	2	0,5%
73	2	0,5%
3	1	0,2%
6	13	3,0%
11	5	1,2%
19	1	0,2%
42	11	2,5%
43	2	0,5%
44	2	0,5%
53	2	0,5%
61	2	0,5%
72	1	0,2%
74	1	0,2%
81	2	0,5%
91	4	0,9%

Tabelle 15: HPV-Verteilung der high grade VIN

Bei einer Aufteilung der an einer VIN erkrankten Patientinnen in zwei Gruppen, älter und jünger als 56 Jahre, waren 304 der 335 (90,7%) der unter 56-Jährigen mit dem Humanen Papillom Virus infiziert. Dabei lagen in 12 Fällen (3,6%) eine Infektion mit einem *low-risk*-Virus vor, in 277 Fällen (82,7%) ein *high-risk*-Virus. In 15 Fällen (4,5%) lagen Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor.

Das Durchschnittsalter der HPV-positiven Patientinnen betrug 46,67 Jahre, der HPV-negativen Patientinnen 49,19 Jahre. Betrachtete man ausschließlich *high-risk*-/Mischinfektionen betrug das Durchschnittsalter 46,62 Jahre.

Unter den über 56-jährigen Patientinnen traten in 86 von 97 Fällen (88,7%) Infektionen mit dem HPV-Virus auf. Hier waren 8 Patientinnen (8,2%) mit einem *low-risk*- und 75 Patientinnen (77,3%) mit einem *high-risk*-Virus infiziert. In 3 Fällen (3,1%) lagen Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor. In einem Fall war das Alter der Patientin unbekannt, dieser Fall fehlt in der Tabelle 18.

	Alter					
	jünger als 56 Jahre		56 Jahre oder älter		Gesamt	
	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
negativ	31	9,3%	11	11,3%	42	9,7%
low-risk	12	3,6%	8	8,2%	20	4,6%
high-risk	277	82,7%	75	77,3%	352	81,5%
Mischinfektion	15	4,5%	3	3,1%	18	4,2%
Gesamt	335	100,0%	97	100,0%	432	100,0%

Tabelle 16: HPV-Status und Alter der Patientinnen bei high grade VIN

4.8 Das Plattenepithelkarzinom (PEC)

Es lagen 81 Fälle eines PEC vor. In 37 Fällen (45,7%) konnte keine HPV-Infektion, in 44 Tumoren eine HPV Infektion nachgewiesen werden, davon in 7 Fällen (8,6%) ein *low-risk*-Typ, in 34 Fällen (42,0%) ein *high-risk*-Typ und in 3 Fällen (3,7%) Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen. Betrachtete man nur die mit dem HPV infizierten Patientinnen, ergab dies einen Anteil von 22,7% *low-risk*-Typen (HPV-6, 11, 42, 44, 55) und 84,1% *high-risk*-Typen (HPV-16, 31, 33, 39, 45, 52, 53, 56, 66, 68).

Teilweise lagen Mehrfachinfektionen vor, sodass die Gesamtanzahl von 81 überschritten wurde. Die jeweilige Verteilung kann der folgenden Tabelle entnommen werden.

	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
Gesamt	81	100,0%
negativ	37	45,7%
16	26	32,1%
31	2	2,5%
33	6	7,4%
45	1	1,2%
52	1	1,2%
53	2	2,5%

56	1	1,2%
66	2	2,5%
68	1	1,2%
6	6	7,4%
11	1	1,2%
42	2	2,5%
44	1	1,2%
55	1	1,2%

Tabelle 17: HPV-Verteilung des PEC

Bei einer Aufteilung der an einem PEC erkrankten Patientinnen in zwei Gruppen, älter und jünger als 56 Jahre, waren 28 der 50 (56,0%) unter 56 Jahre alten Patientinnen mit dem Humanen Papillom Virus infiziert. Dabei lagen in 3 Fällen (6,0%) eine Infektion mit einem *low-risk*-Virus vor, in 23 Fällen (46,0%) mit einem *high-risk*-Virus und in 2 Fällen (4,0%) Mischinfektionen mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen vor.

Unter den über 56-Jährigen Patientinnen traten in 16 von 31 Fällen (51,6%) Infektionen mit dem HPV-Virus auf. Hier waren 4 Patientinnen (12,9%) mit einem *low-risk*-, 11 Patientinnen (35,5%) mit einem *high-risk*-Virus und eine Patientin (3,2%) mit einem *low-risk*- und einem *high-risk*-Typen infiziert.

	Alter					
	jünger als 56 Jahre		56 Jahre oder älter		Gesamt	
	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)	Anzahl	Anzahl der Spalten (%)
negativ	22	44,0%	15	48,4%	37	45,7%
low-risk	3	6,0%	4	12,9%	7	8,6%
high-risk	23	46,0%	11	35,5%	34	42,0%
Mischinfektion	2	4,0%	1	3,2%	3	3,7%
Gesamt	50	100,0%	31	100,0%	81	100,0%

Tabelle 18: HPV-Status und Alter der Patientinnen bei einem PEC

4.9 Das PEC der vorderen Kommissur

Bei 35,8% der Frauen mit PEC war der Tumor an der vorderen Kommissur lokalisiert, dagegen wurden die Präneoplasien eher seltener in dieser Region diagnostiziert: VIN 1 nur in 23,1%, VIN 2 in 11,5% oder VIN 3 in 22,8%. Dieser Zusammenhang war signifikant. (Chi-Quadrat, $p < 0.01$).

Diagnose * Vordere Kommissur Kreuztabelle

			Vordere Kommissur		Gesamt
			nein	ja	
Diagnose	VIN 1	Anzahl	20	6	26
		% innerhalb von Diagnose	76,9%	23,1%	100,0%
	VIN 2	Anzahl	54	7	61
		% innerhalb von Diagnose	88,5%	11,5%	100,0%
	VIN 3	Anzahl	287	85	372
		% innerhalb von Diagnose	77,2%	22,8%	100,0%
	PEC	Anzahl	52	29	81
		% innerhalb von Diagnose	64,2%	35,8%	100,0%
Gesamt	Anzahl		413	127	540
	% innerhalb von Diagnose		76,5%	23,5%	100,0%

Tabelle 19: Erkrankungen der vorderen Kommissur

Da jedoch in einigen Fällen die Lokalisation gänzlich unbekannt war, wurde die gleiche Untersuchung ausschließlich mit Fällen durchgeführt, in denen die Lokalisation bekannt war. Hier ergab sich, dass 76,3% (29 von 38 Fällen) des PEC an der vorderen Kommissur lokalisiert war, während dies nur bei 33,3% (6 von 18 Fällen) der VIN 1, 29,2% (7 von 24 Fällen) der VIN 2 sowie 36,0% (85 von 236 Fällen) der VIN 3 der Fall war. Dieser Zusammenhang war signifikant (Chi-Quadrat, $p < 0.01$).

Diagnose * Vordere Kommissur Kreuztabelle

			Vordere Kommissur		Gesamt
			nein	ja	
Diagnose	VIN 1	Anzahl	12	6	18
		% innerhalb von Diagnose	66,7%	33,3%	100,0%
	VIN 2	Anzahl	17	7	24
		% innerhalb von Diagnose	70,8%	29,2%	100,0%

	VIN 3	Anzahl	151	85	236
		% innerhalb von Diagnose	64,0%	36,0%	100,0%
	PEC	Anzahl	9	29	38
		% innerhalb von Diagnose	23,7%	76,3%	100,0%
Gesamt		Anzahl	189	127	316
		% innerhalb von Diagnose	59,8%	40,2%	100,0%

Tabelle 20: Erkrankungen der vorderen Kommissur, ausschließlich bei Fällen mit bekannter Lokalisation

4.10 Multifokale Erkrankungen (VIN und PEC)

Bei der Untersuchung von insgesamt 57 Fällen mit multifokalen Erkrankungen (VIN und PEC) ergab sich, dass in einem Fall kein HPV nachgewiesen werden konnte, in 11 Fällen ein *low-risk*-Typ und in 42 Fällen ein *high-risk*-Typ. In 3 Fällen konnte nicht an allen Lokalisationen eine HPV Infektion nachwiesen werden.

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
Gültig	negativ	1	1,8	1,9
	low-risk	11	19,3	20,4
	high-risk	42	73,7	77,8
	Gesamt	54	94,7	100,0
Fehlend	System	3	5,3	
Gesamt		57	100,0	

Tabelle 21: HPV-Infektionen bei multifokalen Erkrankungen

5 Diskussion

Das Vulvakarzinom ist eine maligne gynäkologische Erkrankung mit zunehmender Inzidenz. Während das Vulvakarzinom in den letzten Jahrzehnten weitestgehend als eine Erkrankung der älteren Frau angesehen wurde, ist zuletzt insbesondere bei jüngeren Frauen eine deutliche Zunahme der Inzidenz zu beobachten (Hampl, et al., 2008). Aktuelle Zahlen des RKI besagen, dass sich die Inzidenz in Deutschland in den letzten zehn Jahren mehr als verdoppelt hat. Ferner steigt auch die Sterberate des Vulvakarzinoms an – im Gegensatz zu der Sterberate der meisten anderen malignen Tumoren. Es zeigt sich, dass die Inzidenz in Deutschland im internationalen Vergleich besonders hoch ist, mit 4 Neuerkrankungen auf 100.000 Einwohner fast doppelt so hoch wie in den USA oder Österreich (Robert-Koch-Institut, 2015)

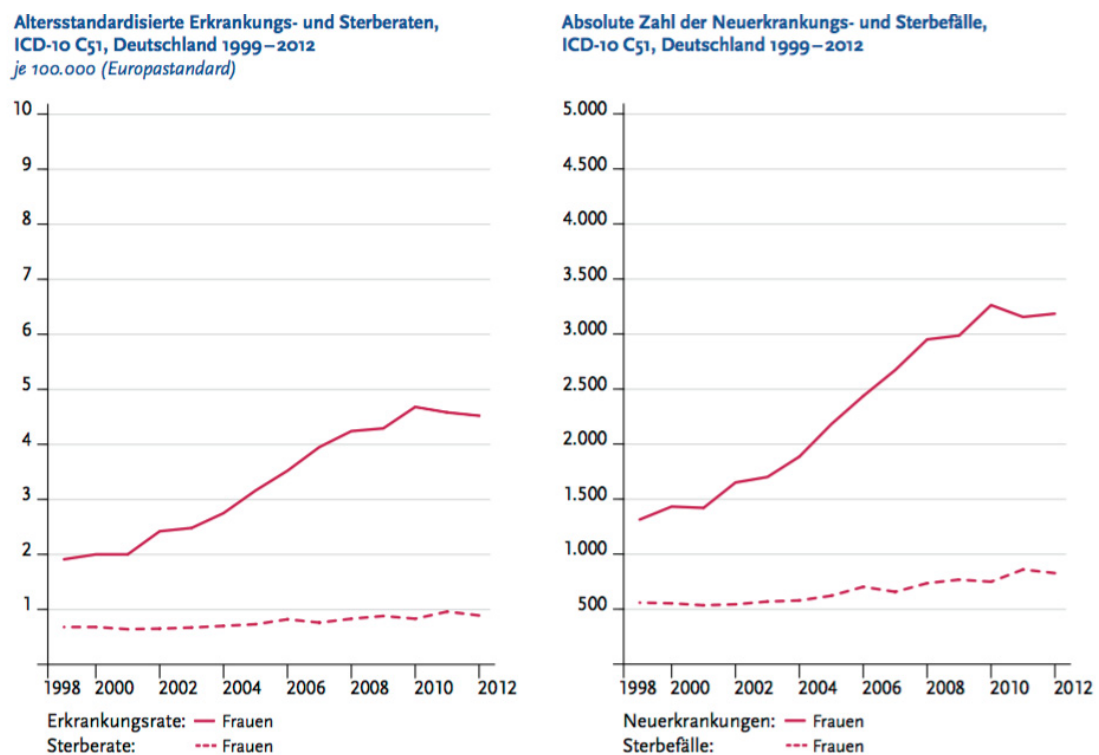


Abb. 7.: Daten des Robert-Koch-Instituts zum Vulvakarzinom

Dabei lohnt sich eine Betrachtung der auslösenden Faktoren in den verschiedenen Populationen: Während bei älteren Frauen in erster Linie chronisch-irritative Hauterkrankungen (beispielsweise Lichen sclerosus et atrophicus) ursächlich sind, gilt bei jüngeren Frauen eine persistierende Infektion mit Humanen Papillomviren

vom *high-risk*-Typen als einer der Hauptrisikofaktor (Zirlik, et al., 2014; Hart, 2001). Dabei scheinen insbesondere die Tumoren älterer Frauen mit einer p53-Überexpressionen einherzugehen, während bei jüngeren Frauen die HP-Viren selbst einen unmittelbaren Effekt auf die Zellproliferation ausüben. Weiterhin gibt es Anzeichen dafür, dass das Plattenepithelkarzinom der vorderen Kommissur ein Tumor mit eigenständiger Entität darstellt. Hierfür könnte als Hinweis gewertet werden, dass in den letzten Jahren vermehrt Neoplasien in diesem Bereich zwischen Klitoris und Urethra auftraten (Panayotopoulos & Hampl, 2012; Hampl, et al., 2008; Reuschenbach, et al., 2013).

Bislang konnte keine spezifische pathogenetische Ursache für das vermehrte Auftreten dieser Läsionen identifiziert werden. Um der Frage nach der Bedeutung der HPV-Infektion im Rahmen der Entstehung von Präneoplasien sowie Neoplasien der Vulva weiter nachzugehen, wurden in der gynäkologischen Praxis von PD Dr. med. V. Küppers die klinischen Daten von 589 Frauen mit unklaren Präneoplasien sowie Neoplasien erhoben. Bei den ausgewerteten Daten handelte es sich um das Alter, Zeitpunkt der Diagnosestellung, die Lokalisation der Läsion, die histologische Differenzierung sowie den HPV-Status und -Typen der untersuchten Patientinnen. Insbesondere wurden 459 VIN1-3 sowie 81 Plattenepithelkarzinome eingehender untersucht.

5.1 Vulväre Intraepitheliale Neoplasie und Humane

Papillomviren

Das Auftreten von vulvären Neoplasien steht in einem signifikanten Zusammenhang mit der Infektion durch das HP-Virus. In verschiedenen, teils internationalen Studien wird die Infektionsrate der VIN mit dem HPV zwischen 80-100% angegeben, hauptsächlich HPV 16 (71-91%). Diese Studien basieren allerdings teilweise auf kleineren Fallzahlen:

In einer aktuellen Studie von Wakeham et al. waren rund 87% (n=97/112) der VIN HPV-positiv (Wakeham, et al., 2017), bei Srodon et al. waren alle 34 untersuchten VIN

HPV-positiv, davon 91% (n=31/34) für HPV-16 (Srodon, et al., 2006). In einem Review von Smith et al. waren 80,4% (n=1077/1340) HPV-positiv, 71,2% für HPV-16 (Smith, et al., 2009).

5.1.1 *High-risk-HPV*

Im Vergleich dazu waren in dem von uns von 1997 bis 2012 in Düsseldorf erhobenen Patientenkollektiv 86,9% (n= 53) aller VIN 2 und 90,6% (n= 337) aller VIN 3 HPV-positiv, darunter 11,5% (n=7) bzw. 3,5% (n=13) Infektionen mit einem *low-risk*-Typen. Somit waren 75,4% (n=46) aller VIN 2 und 87,1% (n=324) aller VIN 3 positiv für eine Infektion mit einem *high-risk*-Typen (s. Tabelle 6, Mischinfektionen eingeschlossen.). Dies bedeutet, dass 85,5% (n=370) aller VIN (2+3) mit einem *high-risk*-Typen assoziiert sind, welchen ein besonders onkogenes Potential zugesprochen wird (s. Tabelle 16, Mischinfektionen eingeschlossen). Diese Ergebnisse decken sich auch mit den Resultaten der oben genannten Studien.

Des Weiteren wurde mit 68,9% (n=372) die VIN 3 am häufigsten diagnostiziert, dabei ist eine Zunahme der diagnostizierten VIN 3 im zeitlichen Verlauf zu beobachten gewesen: Während zu Beginn der Beobachtung der Anteil bei 54% lag, nahm dieser stetig auf 71% zum Ende des Beobachtungszeitraums zu. Ein Erklärungsversuch könnte die vermehrte Inanspruchnahme von gynäkologischen Vorsorgeuntersuchungen sein und die verbesserten diagnostischen Möglichkeiten.

Weiterhin fiel ein deutlicher Unterschied der Prävalenzen der einzelnen HPV-Typen auf: Die wichtigsten *high-risk*-Typen der VIN waren HPV 16 (82,3%; n=321), HPV 33 (8,2%; n=32), HPV 31 (2,8%; n=11) sowie HPV 18 (2,1%; n=8) (s. Tabelle 17). Vergleichbare Zahlen finden sich in der groß angelegten Metaanalyse von Smith et al: Die wichtigsten HPV-Typen waren hier ebenfalls HPV-16 (71,2%), HPV-33 (7,7%), gefolgt von HPV-18 (5,5%) und HPV-31 (1,3%) (Smith, et al., 2009).

5.1.2 *Low-risk-HPV*

Bei weiterer Betrachtung zeigte sich, dass das Auftreten von *low-risk*-Typen insbesondere mit VIN 1 vergesellschaftet war: Während 28,9% (n=11) aller *low-risk*-Infektion mit einer VIN 1 einhergehen, machen diese nur 4,8% aller Neoplasien aus

bzw. 42,3% (n=11) aller VIN 1 sind positiv für einen *low-risk*-Typen (s. Tabelle 6), 34,6% (n=9) für einen *high-risk*-Typen (sowie eine Mischinfektion). Verglichen mit der Metaanalyse von Smith et al: Hier waren 77,5% (n= 55/71) der VIN 1 HPV-positiv, somit ähnlich viele wie in unserer Studie (80,8% n=21/26, s. Tabelle 6) (Smith, et al., 2009).

Dieser offensichtlich unterschiedlichen Ätiologie folgend scheint die Abgrenzung der VIN 1 durch Umbenennung in LSIL bzw. HPV-assoziierte Veränderung und die Zusammenfassung von VIN 2 und 3 zu uVIN bzw. HSIL konsequent zu sein. Es wird mittlerweile davon ausgegangen, dass die ehemalige VIN 1 keine Vorstufe der VIN 2 und 3 darstellt, sondern viel mehr ein eigenständiges Krankheitsbild mit anderem Verlauf darstellt: Die VIN 1 entspricht am ehesten einer kondylomatösen Veränderung und hat nur ein geringes Progressionspotential. Währenddessen ähneln sich VIN 2 und 3 derartig hinsichtlich Klinik, Verlauf und Ätiologie, dass diese zu einem Krankheitsbild zusammengefasst wurden. Gemeinsam ist allen Läsionen, dass ihnen eine Infektion mit dem HP-Virus zugrunde liegt.

5.2 Das Entartungs- und Rezidivrisiko

Es wird davon ausgegangen, dass das Entartungsrisiko der (HPV-induzierten) uVIN geringer ist als das der (nicht HPV-induzierten) dVIN. Ohne Behandlung entwickelt die HPV-induzierte VIN in ca. 9% Invasivität mit einem durchschnittlichen Intervall von 55 Monaten (van Seters, et al., 2005) , bei der dVIN innerhalb von 44 Monaten (Bigby, et al., 2016). Trotz angemessener chirurgischer Behandlung (lokale Exzision, partielle oder totale Vulvektomie) kommt es in ca. 30% der Fälle (dVIN und uVIN) zu Rezidiven (Hillemanns, et al., 2006; Steiner, 2011; Frega, et al., 2011). Das Rezidivrisiko ist dabei bei der HPV-positiven-/ uVIN deutlich erhöht (Kuppers, et al., 1997).

Unter Berücksichtigung der oben genannten Aspekte ergibt sich, dass betroffene Patientinnen auch nach leitliniengerechter Therapie über einen langen Zeitraum nachbetreut werden sollten, insbesondere da in unserer Studie ca. 85% der Patientinnen eine HPV-assoziierte VIN aufweisen. Diese haben somit zwar ein geringeres Entartungsrisiko als HPV-negative VINs, dafür aber ein erhöhtes Rezidivrisiko.

5.3 PEC und HPV

Die Ätiologie des invasiven Plattenepithelkarzinoms der Vulva basiert in erster Linie auf zwei verschiedenen Vorläuferläsionen: dVIN und uVIN. Es wird davon ausgegangen, dass bei der Entstehung und Invasivität der dVIN verschiedene Faktoren eine Rolle spielen (Lichen sclerosus, p53-Mutationen), während der uVIN eine Infektion mit dem HP-Virus zugrunde liegt. Insofern ist auch die Betrachtung des HPV-Status bei invasiven Plattenepithelkarzinomen sinnvoll, insbesondere in Anbetracht der Zunahme der Inzidenz von PEC bei jüngeren Frauen, bei denen das HPV-induzierte Karzinom häufiger auftritt.

In kleineren Studien wurde die Infektionsrate der Plattenepithelkarzinome mit dem HPV zwischen 15-69% angegeben, abhängig von der Untersuchungstechnik. Der dominierende HPV-Typ in der Literatur ist HPV 16 (71-88%) (Gargano, et al., 2012; Alonso, et al., 2011; Kowalewska, et al., 2010).

Vergleichbare Ergebnisse zeigten sich in dem von uns untersuchten Patientenkollektiv: Insgesamt waren 54,3% (n= 44 von 81) der Plattenepithelkarzinome HPV-positiv, 45,7% (n=37 von 81) aller PEC waren positiv für eine Infektion mit einem *high-risk*-Typen (s. Tabelle 6, Mischinfektionen eingeschlossen). Die wichtigsten HPV-Typen des Plattenepithelkarzinoms der Vulva waren HPV 16 (59,1%; n=26), HPV 33 (13,6%; n=6), sowie HPV 6 (13,6%; n=6) (s. Tabelle 19). Bei einer großen Studie von Serrano et al. waren bei den untersuchten Plattenepithelkarzinomen der Vulva 28,6% HPV-positiv. Von diesen 488 invasiven Plattenepithelkarzinomen waren 68,0% positiv für HPV 16, für HPV 33 insgesamt 5,9% sowie für HPV 6 nur 1,1% (Serrano, et al., 2015), hier waren also die häufigsten HR-HPV Typen ebenfalls HPV 16 und 33, die Gesamtinfektionsrate allerdings deutlich geringer (54,3% vs. 28,6%). Die Relevanz der Verteilung der verschiedenen HPV-Typen wird insbesondere bei der Diskussion des nonavalenten Impfstoffs deutlich. Zusammengefasst findet sich in der folgenden Tabelle das Auftreten der 9 HPV-Typen des nonavalenten Impfstoffes in den 3 relevanten Untersuchungen. Es zeigt sich, dass über die Vaccine 80-90% der HPV induzierten Vulvakarzinome verhindert werden können.

HPV-Typ	Unsere Studie	Serrano et al., 2015	Gargano et al., 2012
16	59,1%	68,0%	70,2%
18	0%	4,6%	2,5%
31	2,5%	1,3%	1,6%
33	13,6%	5,9%	14,8%
45	2,3%	2,9%	0%
52	2,3%	1,8%	4,1%
58	0%	1,1%	0%
16/18/31/33/45/52/58	79,8%	85,6%	93,2%

Tabelle 22: Vergleich der häufigsten HR-HPV-Typen in HPV-positiven, invasiven Vulvakarzinomen, Zusammengefasst die 9 im nonavalenten Impfstoff abgedeckten HPV Typen.

5.4 Vulvakarzinom der vorderen Kommissur

In den vergangenen Jahren stellte sich zunehmend die Frage, ob es sich bei dem Plattenepithelkarzinom der vorderen Kommissur um ein Karzinom besonderer Ätiologie handelt (Reuschenbach, et al., 2013). Das Plattenepithelkarzinom der vorderen Kommissur tritt vornehmlich bei jüngeren Frauen und in den letzten Jahren mit zunehmender Inzidenz auf (Hampl, et al., 2008).

Bei den in unserer Arbeit untersuchten Patientinnen war leider nicht bei allen Plattenepithelkarzinomen die Lokalisation bekannt. Insgesamt waren 35,8% (n=29) der Plattenepithelkarzinome definitiv an der vorderen Kommissur gelegen (s. Tabelle 21). Betrachtete man nur die Plattenepithelkarzinome mit bekannter Lokalisation, waren 76,3% an der vorderen Kommissur zu finden und stellen damit die große Mehrheit aller Karzinome dar (s. Tabelle 22). Diese waren zu 51,7% (n=15) HPV-positiv und damit ähnlich häufig wie die restlichen Plattenepithelkarzinome. In einem direkten Vergleich mit der multizentrischen Studie von Reuschenbach et al. ist dies geringfügig mehr: Hier waren 42% (n=55/131) der invasiven Plattenepithelkarzinome der vorderen Kommissur HR-HPV-positiv, davon größtenteils für HPV 16 (83,6%). Ferner war in dieser Studie der Anteil der zusätzlich zum HPV Status p 16^{INK4a}-diffus exprimierenden Tumoren (als Surrogat-Indikator für tatsächlich HPV-induzierte Karzinome) mit 21,4% noch einmal deutlich niedriger.

Während die Inzidenz von Plattenepithelkarzinomen an der vorderen Kommissur auffällig war, lässt sich in dieser Studie weiterhin ein Zusammenhang mit einer HPV-Infektion nachweisen: Über 50% der Karzinome in unserer Studie waren HPV-positiv, somit spielen HPV-Infektionen auch bei diesem Typus des Plattenepithelkarzinoms durchaus eine Rolle, wenn auch eine Geringere als beispielsweise bei anderen Läsionen (verglichen zu 70-100% HR-HPV-positiven VIN). Dieser Schluss wird auch in der Studie von Reuschenbach et al. gezogen: So zeigte sich zwar die hohe Infektionsrate der Vulvakarzinome der vorderen Kommissur mit einem HR-HPV (42%), aber sowohl die p16^{INK4a}-Expression, als auch p53-Expression waren in vielen Fällen unauffällig und lassen zusätzlich einen anderen, bisher unbekannten (HPV- und p53-unabhängigen) kanzerogenen Mechanismus wahrscheinlicher erscheinen.

Bei Panayotopoulos & Hampl war der Anteil an HPV-positiven Tumoren sogar geringer als bei Tumoren anderer Lokalisationen (42% gegenüber 48,1%), sodass auch hier nicht von einem Tumor eigener Klassifikation ausgegangen wurde. Die genaue Pathogenese und Ätiologie des Plattenepithelkarzinoms der vorderen Kommissur ist folglich nicht völlig geklärt, insbesondere warum deren Inzidenz stark zunimmt und eher jüngere Frauen betrifft (Panayotopoulos & Hampl, 2012; Reuschenbach, et al., 2013). Klinisch bedeutsam sind diese Erkenntnisse in jedem Fall, da von ärztlicher Seite zunehmend auch bei jüngeren Frauen mit malignen Erkrankungen, besonders im Bereich der vorderen Kommissur, gerechnet werden muss.

5.5 Multifokale Läsionen (VIN und Plattenepithelkarzinome)

Es wird ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von multifokalen VIN sowie Plattenepithelkarzinomen und einer Infektion mit dem HP-Virus vermutet. In dem untersuchten Kollektiv dieser Arbeit zeigten sich bei 10,6% (n=57/540) der Patientinnen multifokale Läsionen. Verglichen mit anderen Studien ist dies ein niedriger Wert, in der Literatur wird der Anteil an multifokalen Läsionen meist mit über 50% angegeben (Li, et al., 2012; Frega, et al., 2011).

Interessant war dabei der Anteil an HPV-Infektionen: Nur in einem Fall konnte keine HPV-DNA nachgewiesen werden, bei allen anderen Läsionen (VIN 1-3 und PEC;

98,2% n=56/57) fand sich zumindest bei einem Teil der Läsionen eine HPV-Infektion. Dabei handelte es sich in 73,7% (n=42) um *high-risk*-Typen (s. Tabelle 21). Das Auftreten von multifokalen Läsionen steht also in einem engen Zusammenhang mit einer HPV-Infektion, insbesondere mit *high-risk*-Typen, so dass hier ein kausaler Zusammenhang bestehen könnte.

Klinisch geht dabei von multifokalen Läsionen kein erhöhtes Progressionsrisiko aus oder umgekehrt, wie in einer groß angelegten Studie von Jones et al. gezeigt wurde (Jones, et al., 2005), wohl aber ein erhöhtes Rezidivrisiko: In einer Studie von van Esch et al. zeigten 65,6% der multifokalen Läsionen ein Rezidiv gegenüber 34,2% der unifokalen Läsionen. Die Rezidivrate in dieser Studie war trotz einer höheren Quote an Lokaltherapien mit Imiquimod zusätzlich zur Laser- und Exzisionstherapie erhöht (van Esch, et al., 2013).

5.6 Das Alter der Patientinnen

Es wird vermutet, dass die zunehmende Inzidenz von Vulvakarzinomen und hier vor allem intraepithelialer Neoplasien bei jungen Frauen in den letzten Dekaden auf das HP-Virus zurückzuführen ist (De Vuyst, et al., 2009). Dies bestätigte sich zum Teil in dieser Arbeit.

5.6.1 VIN

Patientinnen mit einer klassischen VIN (VIN 2 bzw. 3 sowie HPV-positiv) waren im Durchschnitt 46,6 Jahre alt während Patientinnen mit einer differenzierten VIN im Durchschnitt 49,2 Jahre alt waren. Auch in anderen Studien zeigt sich dieser Unterschied, teilweise fällt er noch wesentlich deutlicher aus: 53 Jahre bei der uVIN vs. 79 Jahre bei der dVIN (Skapa, et al., 2007). Weiterhin waren in unserer Studie bei den unter 56-jährigen Patientinnen 90,7% der Läsionen HPV-positiv, bei den über-56-jährigen waren es 88,7% (s. Tabelle 16), so dass die in anderen Studien beschriebenen Unterschiede in der Altersverteilung zwischen HPV positiven und HPV negativen VIN Läsionen nicht zu finden war.

5.6.2 Plattenepithelkarzinom

HPV-positive Patientinnen (n=44/81) mit einem Plattenepithelkarzinom waren im Durchschnitt 50,5 Jahre alt, HPV-negative Patientinnen (n=37/81) 53,7 Jahre alt. Die jüngste Patientin mit einem HPV-positiven invasiven Plattenepithelkarzinom war 19 Jahre alt, die jüngste Patientin mit einem HPV-negativen Plattenepithelkarzinom 26 Jahre. Allerdings lässt sich die vermehrte Inzidenz von Plattenepithelkarzinomen nicht nur auf das HP-Virus zurückführen: Während 56% (n=28/50) der Patientinnen unter 56 Jahren mit einem Plattenepithelkarzinom positiv für das HP-Virus waren, ist dies auch bei 51,6% (n=16/31) der über 56-jährigen Patientinnen der Fall (s. Tabelle 18).

Auch bei der Betrachtung einer noch jüngeren Kohorte (z.B. unter 40 Jahren) bleibt der Anteil an HPV-positiven PEC knapp über 50%. Unterschiede zeigten sich bei der Bestimmung des HPV-Typen: Bei den unter 56-jährigen zeigten sich immerhin 50% (n= 25) *high-risk*-Typen, bei den über 56-jährigen nur 38,7% (n=12), der Rest (6% vs. 12,9%) entfällt auf *low-risk*-Typen. Hier stellt sich folglich die Frage, ob lediglich *low-risk*-Infektionen das Ergebnis verfälschen oder ob das HP-Virus bei der Pathogenese des Plattenepithelkarzinoms der älteren Frau eine größere Rolle bzw. der jüngeren Frau eine kleinere Rolle spielt als vermutet.

Vergleichbare Ergebnisse zeigten sich bei Reuschenbach et al.: Insbesondere bei Patientinnen mit Tumoren der vorderen Kommissur zeigte sich kein signifikanter Altersunterschied zwischen Tumoren mit p53-Überexpression und Tumoren mit positivem HR-HPV-/ p16^{INK4a}-Status (Reuschenbach, et al., 2013):

In der Studie waren Patientinnen mit einem Vulvakarzinom der vorderen Kommissur und p53-Überexpression durchschnittlich 60,1 Jahre alt, während Patientinnen mit positivem HR-HPV-/ p16^{INK4a}-Status 55,6 Jahre alt, also nur unwesentlich jünger waren.

5.7 Die HPV-Impfung

5.7.1 Potential

Bereits seit fast einer Dekade wird erfolgreich die Impfung gegen die gängigsten Erreger des Cervix-, Vaginal-, und Vulvakarzinoms sowie der Condylomata accuminata

(HPV 6, 11, 16, 18) durchgeführt. Im April 2016 erfolgte mit der Einführung von Gardasil 9® die Erweiterung der geimpften HPV-Typen auf 31, 33, 45, 52 und 58. Der Schutz vor einer HPV-Infektion mit den Typen 6, 11, 16, 18 ist dabei weiterhin gegeben, somit sollen ein Großteil der HPV-induzierten Cervix-, Vaginal-, und Vulvakarzinome in Zukunft verhindert werden können. Die unerwünschten Nebenwirkungen der Impfung mit dem nonavalenten Impfstoff entsprechen weitestgehend den Nebenwirkungen mit dem tetravalenten Impfstoff. Die Erfolgsquote einer Impfung liegt bei fast 100%, wenn HPV-negative Frauen geimpft werden (Joura, et al., 2015).

In unserer Studie zeigten sich bei 80,1% (n=347) der Patientinnen mit einer VIN eine Infektion mit HPV 6, 11, 16 oder 18. Weitere 12% (n=52) der Patientinnen mit einer VIN zeigten eine Infektion mit den Typen 31, 33, 45, 52 oder 58, welche durch Gardasil 9® hätten verhindert werden können (s. Tabelle 15). Bedenkt man Mischinfektionen (insgesamt 445 Infektionen), hätten 89,7% aller Infektionen mit dem HP-Virus verhindert werden können (gegenüber 78% mit dem tetravalenten Impfstoff).

Weiterhin zeigten sich bei 40,7% (n=33) der Plattenepithelkarzinome HPV-Typ 6, 11 und 16 (kein HPV 18). Weitere 12,3% (n=10) der Plattenepithelkarzinome zeigten eine Infektion mit den HPV-Typen 31, 33, 45 oder 52, welche durch Gardasil 9® hätten verhindert werden können (s. Tabelle 19). Bedenkt man Mischinfektionen (insgesamt 53 Infektionen), hätten 81,1% aller Infektionen mit dem nonavalenten Impfstoff verhindert werden können (gegenüber 62,3% mit dem tetravalenten Impfstoff). Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen anderer Studien (s. Tabelle 22), in denen teilweise bei über 90% der Plattenepithelkarzinome eine Infektion mit einem HP-Virus verhindert hätten werden können.

5.7.2 Ausblick

Aktuell (2016) ist es zu früh, eine genaue Einschätzung zur Wirksamkeit sowie zum Benefit des nonavalenten Impfstoffs zu geben. Es wird allerdings davon ausgegangen, dass die Erweiterung des Impfschutzes analog zu den Erfolgen der bi- und tetravalenten Impfstoffe bei nur geringen Mehrkosten (162,70€ Gardasil 9® vs. 156,38€ Gardasil®) sich vielversprechend auf die Inzidenz und die Mortalität von Cervix-, Vaginal-, Vulva- und Analkarzinomen auswirken wird (Largeron, et al., 2016).

Weiterhin sollte beachtet werden, dass aktuell nur ca. 40-50% der 17- bis 20-jährigen Frauen in Deutschland und im europäischen Vergleich als Negativbeispiel nur 25% der 14-jährigen Mädchen in Frankreich eine HPV-Impfung erhalten haben (Schüle, et al., 2016; Deleré, et al., 2013). In Kombination mit einer Steigerung der Impfquote wird die Einführung des nonavalenten Impfstoffs in Zukunft eine deutliche Reduktion der HPV-Infektionen (in unserem Patientenkollektiv um fast 90%) zur Folge haben.

Bereits wenige Jahre nach Einführung der großangelegten HPV-Impfungen zeigen sich entsprechend erste Erfolge: So nahm in Australien (als Nation mit sehr hohen Impfquoten von über 80% bei Schülerinnen) die Inzidenz an Genitalwarzen bei unter 21-jährigen Frauen von 11,5% in 2007 auf 0,85% in 2011 ab – eine Reduktion um 92,6% (Ali, et al., 2013)! Es bleibt abzuwarten, ob sich langfristig ein ähnlicher Effekt auf die Inzidenz der vulvären Neoplasien sowie Karzinome abzeichnet.

6 Literaturverzeichnis

- Ali, H. et al., 2013. Genital warts in young Australians five years into national human papillomavirus vaccination programme: national surveillance data. *BMJ*, 3, p. 346.
- Alkatout, I. et al., 2015. Vulvar cancer: epidemiology, clinical presentation, and management options. *International Journal of Women's Health*, März, Band 7, pp. 305-313.
- Alonso, I., Fuste, V. & del Pino, M. e. a., 2011. Does human papillomavirus infection imply a different prognosis in vulvar squamous cell carcinoma?. *Gynecol. Oncol.*, Issue 122, pp. 509-14.
- Anon., kein Datum
- Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, 2009. *Interdisziplinäre S2k-Leitlinie für die Diagnostik und Therapie des Vulvakarzinoms und seiner Vorstufen*, München: W. Zuckschwerdt Verlag.
- Athavale, R. et al., 2008. Vulvar intraepithelial neoplasia—The need for auditable measures of management. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, März, 137(1), pp. 97-102.

- Baker, C. et al., 1987. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. *J Virol*, April, 61(4), pp. 962-71.
- Baltzer, J., Friese, K., Graf, M. & Wolff, F., 2006. *Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Baltzer, J., Meerpohl, H. & Bahnse, J., 2000. *Praxis der gynäkologischen Onkologie*. Stuttgart: Thieme Verlag.
- Bigby, S., Eva, L., Fong, K. & Jones, R., 2016. The Natural History of Vulvar Intraepithelial Neoplasia, Differentiated Type: Evidence for Progression and Diagnostic Challenges.. *Int J Gynecol Pathol.*, November, 35(6), pp. 574-84.
- Chang, J. et al., 2001. The expression of HPV-16 E5 protein in squamous neoplastic changes in the uterine cervix.. *J Biomed Sci*, 8(2), pp. 206-13.
- Chen, S. et al., 2007. ErbB4 (JM-b/CYT-1)-induced expression and phosphorylation of c-Jun is abrogated by human papillomavirus type 16 E5 protein. *Oncogene*, Issue 26, pp. 42-53.
- Costa, S., 2003. Vulva. In: M. Kaufmann, S. Costa & A. Scharl, Hrsg. *Die Gynäkologie*. Heidelberg: Springer Verlag, p. 355.
- Crook, T., Tidy, J. & Vousden, K., 1991. Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation.. *Cell*, 1 November, 67(3), pp. 547-56.
- Crum, C., 1992. Carcinoma of the vulva: epidemiology and pathogenesis. *Obstet. Gynecol*, Issue 79, pp. 448-458.
- Darragh, et al., 2012. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, Oktober, 136(10), pp. 1266-97.
- de Villiers, E. et al., 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology*, Issue 324, pp. 17-27.
- De Villiers, E. et al., 2004. Classification of Papillomaviruses. *Virology*, Issue 324, pp. 17-27.

- De Vuyst, H. et al., 2009. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. *Int J Cancer*, Band 124, pp. 1626-36.
- Deleré, Y., Böhmer, M., Walter, D. & Wichmann, O., 2013. HPV vaccination coverage among women aged 18-20 years in Germany three years after recommendation of HPV vaccination for adolescent girls: results from a cross-sectional survey.. *Hum Vaccin Immunother.* , Aug, 9(8), pp. 1706-11.
- Deleré, Y. et al., 2014. Human Papillomavirus prevalence and probable first effects of vaccination in 20 to 25 year-old women in Germany: a population-based cross-sectional study via home-based self-sampling. *BMC Infectious Diseases*, 14(87), pp. 1-10.
- Devaraj, K., Gillison, M. & Wu, T., 2003. Development of HPV vaccines for HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(5), pp. 345-362.
- Dyson, N., Howley, P., Munger, K. & Harlow, E., 1989. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*, 243(4893), pp. 934-7.
- Fox, H. & Wells, M., 2003. Recent advances in the pathology of the vulva. *Histopathology*, Issue 42, pp. 209-216.
- Frega, A. et al., 2003. Human papillomavirus in virgins and behaviour at risk. *Cancer Letters*, Mai, 194(1), pp. 21-24.
- Frega, A. et al., 2011. The re-infection rate of high-risk HPV and the recurrence rate of vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) usual type after surgical treatment. *Med Sci Monit*, September, 17(9), pp. 532-5.
- Friese, K., Schäfer, A. & Hof, H., 2003. *Infektionskrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe*. Heidelberg: Springer Verlag.
- Fukotome, M. et al., 2006. Enhancement of radiosensitivity by dual inhibition of the HER family with ZD1839 ("Iressa") and trastuzumab ("Herceptin"). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 66(2), pp. 528-36.
- Gargano, J. W. P., Wilkinson, E. J. M. & Unger, E. R. P. M. e. a., 2012. Prevalence of Human Papillomavirus Types in Invasive Vulvar Cancers and Vulvar Intraepithelial

Neoplasia 3 in the United States Before Vaccine Introduction. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, Oct, 16(4), pp. 471-9.

Garland, S., Hernandez-Avila, M., Wheeler, C. & al, e., 2007. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N. Engl. J. Med.*, Issue 356, pp. 1928-43.

Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, 2014. *Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Atlas der Krebsinzidenz und – mortalität in Deutschland (GEKID-Atlas)*. [Online]

Available at: www.gekid.de

[Zugriff am 1 Februar 2016].

Gewin, L. & Galloway, D., 2001. E Box-Dependent Activation of Telomerase by Human Papillomavirus Type 16 E6 Does Not Require Induction of c-myc. *Journal of Virology*, August, 75(15), pp. 7198-201.

Giesecking, F. & Kühn, W., 2015. Differenzialdiagnostik Vulva - WHO-Nomenklatur und klinische Beispiele. *gyn- Praktische Gynäkologie*, Issue 20, pp. 70-4.

Gille, G. et al., 2014. HPV-induzierte Kondylome, Karzinome und Vorläuferläsionen – eine interdisziplinäre Herausforderung. *Dtsch med Wochenschr*, 139(47), pp. 2405-10.

Grassmann, R., Iftner, T. & Fleckenstein, B., 2010. Kanzerogenese durch Viren. In: W. Hiddemann & C. Batram, Hrsg. *Die Onkologie*. Heidelberg: Springer Verlag, pp. 226-231.

Hampl, M. et al., 2008. New aspects of vulvar cancer: changes in localization and age of onset. *Gynecol Oncol.*, Jun, 109(3), pp. 340-5.

Hampl, M. M. et al., 2006. Effect of Human Papillomavirus Vaccines on Vulvar, Vaginal, and Anal Intraepithelial Lesions and Vulvar Cancer. *Obstetrics & Gynecology*, Dezember, 108(6), pp. 1361-8.

Hanahan, D., 2000. The hallmarks of cancer. *Cell*, 7 Januar, 100(1), pp. 57-70.

Haroske, G., 2009. Tumorigenese. In: M. Reiß, Hrsg. *Facharztwissen HNO-Heilkunde*. Heidelberg: Springer Verlag, p. 117.

Harper, D. et al., 2006. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet.*, 15 April, 367(9518), pp. 1247-55.

- Hart, W., 2001. Vulvar intraepithelial neoplasia: historical aspects and current status. *Int J Gynecol Pathol*, Issue 20, pp. 16-30.
- Heaps, J. et al., 1990. Surgical-pathologic variables predictive of local recurrence in squamous cell carcinoma of the vulva. *Gynecologic Oncology*, September, 38(3), pp. 309-314.
- Heck, D., Yee, C., Howley, P. & Münger, K., 1992. Efficiency of binding the retinoblastoma protein correlates with the transforming capacity of the E7 oncoproteins of the human papillomaviruses.. *PNAS*, 89(10), pp. 4442-6.
- Heller, D., 2007. Report of a New ISSVD Classification of VIN. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, Januar, 11(1), pp. 46-7.
- Herold, J. et al., 1996. Vulvar intraepithelial neoplasia: long term follow up of treated and untreated women. *Br J Obstet Gynaecol*, Mai, 103(5), pp. 446-452.
- Herrmann, K. & Trinkkeller, U., 2015. *Dermatologie und medizinische Kosmetik: Leitfaden für die kosmetische Praxis*. 3. Auflage Hrsg. Heidelberg: Springer Verlag.
- Hillemanns, P. & Wang, X., 2006. Integration of HPV-16 and HPV-18 DNA in vulvar intraepithelial neoplasia.. *Gynecol Oncol.*, Feb, 100(2), pp. 276-82.
- Hillemanns, P., Wang, X., Staehle, S. & Michels, W., 2006. Evaluation of different treatment modalities for vulvar intraepithelial neoplasia (VIN): CO2 laser vaporization, photodynamic therapy, excision and vulvectomy. *Gynecologic Oncology*, Februar, 100(2), pp. 271-5.
- Huibregtse, J., Scheffner, M. & Howley, P., 1991. A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18.. *EMBO J.*, Dezember, 10(13), pp. 4129-35.
- Jentschke, M., Soergel, P. & Hillemanns, P., 2012. Vulväre und Vaginale intraepitheliale Neoplasie (VIN/VAIN) 3. In: *Der Gynäkologe*. Hannover: Springer Verlag, pp. 304-6.
- Jeon, S., Allen-Hoffmann, B. & Lambert, P., 1995. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol.*, May, 69(5), pp. 2989-97.
- Jeon, S. & Lambert, P., 1995. Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 28 Februar, 92(5), pp. 1654-8.

- Jones, R. W. F. F., Rowan, D. M. F. & Stewart, A. W. B. D., 2005. Vulvar Intraepithelial Neoplasia: Aspects of the Natural History and Outcome in 405 Women. *Obstetrics & Gynecology*, Dezember, 106(6), pp. 1319-26.
- Joura, E. et al., 2015. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med*, 19 Februar, 372(8), pp. 711-23.
- Joura, E., Giuliano, A. & Iversen, O. e. a., 2015. A 9-Valent HPV Vaccine against Infection and Intraepithelial Neoplasia in Women. *The New England Journal of Medicine*, 2, Issue 372, pp. 711-23.
- Judson, P. et al., 2006. Trends in the incidence of invasive and in situ vulvar carcinoma. *Obstetric Gynecology*, Issue 107, pp. 1018-1022.
- Küppers, V., 2001. Behandlung der Präneoplasien von Vulva und Vagina. *Der Gynäkologe*, Juli, 34(7), pp. 603-7.
- Kaufmann, M. & Pfleiderer, A., 2008. Tumoren und Veränderungen der weiblichen Geschlechtsorgane. In: G. Martius, M. Breckwoldt & A. Pfleiderer, Hrsg. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, p. 167.
- Klaes, R. et al., 1999. Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res.*, 15 Dezember, 59(24), pp. 6132-6.
- Klingelhutz, A., Foster, S. & McDougall, J., 1996. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature*, 7 März, 380(6569), pp. 79-82.
- Kowalewska, M. et al., 2010. The frequency of human papillomavirus infection in Polish patients with vulvar squamous cell carcinoma.. *Int. J. Gynecol. Cancer*, Issue 20, pp. 434-7.
- Kuppers, V., Somville & Bender, 1997. Risk factors for recurrent VIN. Role of multifocality and grade of disease. *J. Reprod. Med*, 42(3), pp. 140-4.
- Largerö, N. et al., 2016. An estimate of the public health impact and cost-effectiveness of universal vaccination with a 9-valent HPV vaccine in Germany.. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.*, Jul, pp. 1-14.
- Lellé, R. & Küppers, V., 2014. *Kolposkopie in der Praxis*. 2. Auflage Hrsg. Heidelberg: Springer Verlag.

- Li, X. & Coffino, P., 1996. High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. *J Virol.*, Juli, 70(7), pp. 4509-16.
- Li, X. et al., 2012. A multicenter study of the clinical characteristics of usual-type vulvar intraepithelial neoplasia in China.. *Int J Gynaecol Obstet.*, Apr, 117(1), pp. 18-22.
- Münger, K. et al., 2004. Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis. *J Virol.*, November, 78(21), pp. 11451-60.
- Münger, K. et al., 1989. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product.. *EMBO J.*, 20 Dezember, 8(13), pp. 4099-105.
- Maniar, K., Ronnett, B., Vang, R. & Yemelyanova, A., 2013. Coexisting High-grade Vulvar Intraepithelial Neoplasia (VIN) and Condyloma Acuminatum - Independent Lesions Due to Different HPV Types Occurring in Immunocompromised Patients. *Am J Surg Pathol*, Januar, 37(1), pp. 53-60.
- Matsuzawa, M. et al., 2015. A case of recurrent squamous cell carcinoma of the vulva successfully treated by combination therapy with cetuximab and paclitaxel. *British Journal of Dermatology*, 18 November.
- Mylonas, I., 2016. *Sexuell übertragbare Erkrankungen: Ein Leitfaden für Frauenärzte*. Heidelberg: Springer Verlag.
- Nauth, H., 2014. *Gynäkologische Zytodiagnostik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Nieuwenhof, H. et al., 2011. Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia is often found in lesions, previously diagnosed as lichen sclerosus, which have progressed to vulvar squamous cell carcinoma. *Modern Pathology*, Issue 24, pp. 297-305.
- Oh, S., Longworth, M. & Laimins, L., 2004. Roles of the E6 and E7 Proteins in the Life Cycle of Low-Risk Human Papillomavirus Type 11. *J Virol*, 78(5), pp. 2620-6.
- Panayotopoulos, D. & Hampl, M., 2012. *Das Vulvakarzinom der vorderen Kommissur Eine neue Tumorentität ?*. Düsseldorf: s.n.
- Papathemelis, T. & Meinhold-Heerlein, I., 2012. Das Vulvakarzinom und seine Vorstufen. In: N. M. Maass & B. M. Schiessl, Hrsg. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Heidelberg: Springer, p. 40.
- Petersen, E., 2011. *Infektionen in Gynäkologie und Geburtshilfe*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

- Pino, M., Rodriguez-Carunchio, L. & Ordi, J., 2013. Pathways of vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Histopathology*, Issue 62, pp. 161-175.
- Reichert, R., 2012. *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology - An Atlas and Text*. St. Louis: Lippincott Williams & Wilkins.
- Reuschenbach, M. et al., 2013. Characterization of Squamous Cell Cancers of the Vulvar Anterior Fourchette by Human Papillomavirus, p16INK4a, and p53. *Journal of Lower Genital Tract Disease*., Juli, 17(3), pp. 289-97.
- Reyes, M. & Cooper, K., 2014. An update on vulvar intraepithelial neoplasia: terminology and a practical approach to diagnosis. *J Clin Pathol*, Issue 67, pp. 290-294.
- Riethdorf, L. & Löning, T., 2013. Vulva. In: M. Dietel & G. Klöppel, Hrsg. *Pathologie - Mamma, weibliches Genitale, Schwangerschaft und Kindererkrankungen*. Berlin: Springer Verlag, pp. 264-70.
- Riethdorf, S. et al., 2004. p16INK4A expression as biomarker for HPV 16-related vulvar neoplasias.. *Hum. Pathol.*, Issue 35, pp. 1477-83.
- Robert-Koch-Institut, 2015. [Online]
Available at: http://www.gekid.de/Doc/krebs_in_deutschland_2015.pdf
[Zugriff am April 2017].
- Schöll, W., Reich, O. & Regauer, S., 2009. Behandlung vulvärer intraepithelialer Neoplasie (VIN) mit topischem Cidofovir und Imiquimod. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, pp. 69-117.
- Schüle, S. et al., 2016. Factors influencing uptake of HPV vaccination among girls in Germany.. *BMC Public Health*, Sep, Issue 16, p. 995.
- Scheffner, M. et al., 1990. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, 21 Dezember, 63(6), pp. 1129-36.
- Schmidt, T. & Mallmann, P., 2003. Vulva. In: J. Dudenhausen, H. Schneider & G. Bastert, Hrsg. *Frauenheilkunde und Geburtshilfe*. Berlin: Walter de Gruyter Verlag, pp. 486-88.
- Schmoll, H., Höffken, K. & Possinger, K., 2006. *Kompendium Internistische Onkologie Standards in Diagnostik und Therapie*. 4. Auflage Hrsg. Heidelberg: Springer Verlag.
- Schnürch, H. & Meerpohl, H., 2006. Vulvakarzinom. In: Schmoll, Höffken & Possinger, Hrsg. *Kompendium Internistische Onkologie*. Heidelberg: Springer Verlag, p. 4767.

- Schröder, W., 2004. Vulvakarzinom. In: W. Hiddemann, H. Huber & C. Bartram, Hrsg. *Die Onkologie*. Heidelberg: Springer, pp. 1154-5.
- Serrano, B. et al., 2015. Human papillomavirus genotype attribution for HPVs 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 and 58 in female anogenital lesions. *European Journal of Cancer*, September, 51(13), pp. 1732-41.
- Seters, M., Beurden, M. & Craen, A., 2005. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecologic Oncology*, May, 97(2), pp. 645-651.
- Sevin, BU & Köchli, O., 1998. Maligne Tumoren der Vulva. In: J. Benz, E. Petru & U. Haller, Hrsg. *Gynäkologische Onkologie - Manual für Klinik und Praxis*. Basel: Springer Verlag, pp. 89-114.
- Sideri, M. et al., 2005. Squamous Vulvar Intraepithelial Neoplasia. *The Journal of Reproductive Medicine*, November, 50(11), pp. 807-9.
- Skapa, P. et al., 2007. Human papillomavirus (HPV) profiles of vulvar lesions: possible implications for the classification of vulvar squamous cell carcinoma precursors and for the efficacy of prophylactic HPV vaccination. *Am J Surg Pathol*, pp. 1834-43.
- Smith, J. et al., 2009. Human papillomavirus type-distribution in vulvar and vaginal cancers and their associated precursors.. *Obstet Gynecol.*, 113(4), pp. 917-24.
- Smith, J. et al., 2007. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*, Band 121, pp. 621-32.
- Smith, J. S. P. et al., 2009. Human Papillomavirus Type-Distribution in Vulvar and Vaginal Cancers and Their Associated Precursors. *Obstetrics & Gynecology*, April, 113(4), pp. 917-24.
- Srodon, M., Stoler, M., Baber, G. & Kurman, R., 2006. The distribution of low risk and high risk types in vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia (VIN and VAIN). *AM J Surg Pathol*, pp. 1513-18.
- Steger, G. & Pfister, H., 2010. Papillomviren. In: H. Doerr & W. Gerlich, Hrsg. *Medizinische Virologie - Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, p. 628.

Stehman, F., Bundy, B., Ball, H. & Clarke-Pearson, D., 1996. Sites of failure and times to failure in carcinoma of the vulva treated conservatively: a Gynecologic Oncology Group study.. *Am J Bstet Gynecol*, April, 174(4), pp. 1132-3.

Steiner, M., 2011. *Inzidenzentwicklung der VIN über drei Dekaden*. Düsseldorf: s.n.

Sykes, P., Smith, N., McCormick, P. & Frizelle, F., 2002. High-grade vulval intraepithelial neoplasia (VIN 3): a retrospective analysis of patient characteristics, management, outcome and relationship to squamous cell carcinoma of the vulva 1989-1999.. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, Februar, 42(1), pp. 69-74.

Thierry, F. & Yaniv, M., 1987. The BPV1-E2 trans-acting protein can be either an activator or a repressor of the HPV18 regulatory region. *EMBO J.*, Nov, 6(11), pp. 3391-7.

Thomas, C. et al., 2010. *Atlas der Infektionskrankheiten*. Stuttgart: Schattauer GmbH.

Thorland, E., Myers, S., Gostout, B. & Smith, D., 2003. Common fragile sites are preferential targets for HPV16 integrations in cervical tumors. *Oncogene*, 27 Februar, 22(8), pp. 1225-37.

Ueda, Y. et al., 2011. Two Distinct Pathways to Development of Squamous Cell Carcinoma of the Vulva. *Journal of Skin Cancer*, pp. 1-7.

van Beurden, M. et al., 1995. Multifocal vulvar intraepithelial neoplasia grade III and multicentric lower genital tract neoplasia is associated with transcriptionally active human papillomavirus.. *Cancer.*, 15 6, 75(12), pp. 2879-84.

van de Nieuwenhof, H., van Kempen, L., Massuger, L. & de Hullu, J., 2010. Differentiated-Type Vulval Intraepithelial Neoplasia Has a High-Risk Association With Vulval Squamous Cell Carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*, Januar, 20(1), p. 194.

van Esch, M. et al., 2013. Clinical Characteristics Associated With Development of Recurrence and Progression in Usual-Type Vulvar Intraepithelial Neoplasia. *International Journal of Gynecological Cancer*, Oktober, 23(8), pp. 1476-83.

van Seters, M., van Beurden, M. & de Craen, A., 2005. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecologic Oncology*, Issue 97, pp. 645-51.

Venuti, A. et al., 2011. Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Molecular Cancer*, 10(140).

- Villa, L. et al., 2005. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol.*, Mai, 6(5), pp. 271-8.
- Wakeham, K. et al., 2017. HPV status and favourable outcome in vulvar squamous cancer. *IJC*, 18 januar, 140(5), pp. 1134-46.
- Wang, J. et al., 2015. The role of RhoA in vulvar squamous cell carcinoma: a carcinogenesis, progression, and target therapy marker.. *Tumor Biology*, 13 September.
- WHO, 2005. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans VOLUME 90 Human Papillomaviruses*, Lyon: WHO Press.
- Yim, E. & Park, J., 2005. The Role of HPV E6 and E7 Oncoproteins in HPV-associated Cervical Carcinogenesis. *Cancer Res Treat*, 37(6), pp. 319-24.
- Zheng, Z. & Baker, C., 2006. PAPILLOMAVIRUS GENOME STRUCTURE, EXPRESSION, AND POST-TRANSCRIPTIONAL REGULATION. *Front Bioscience*, 01 September, Issue 11, pp. 2286-2302.
- Zirlik, K., Stickeler, E. & Waller, C., 2014. Vulvakarzinom. In: D. Berger, et al. Hrsg. *Das Rote Buch - Hämatologie und internistische Onkologie*. Ulm: Hüthig Jehle Rehm GmbH, p. 925.

Ich danke meinen Betreuern, Herrn PD Dr. Volkmar Küppers und Frau Prof. Monika Hampl, für die Unterstützung während dieser Arbeit.

Ich danke meiner Familie für ihre immerwährende Unterstützung, insbesondere meinem Großvater Dr. rer. nat. Manfred Blazejak.