

Aus dem Institut für Pathologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. Irene Esposito

**Anwendung adjuvanter zytologischer Methoden
an Gebärmutterhalsabstrichen
bei Schwangeren**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Karima El Massasi Bouhjar

2024

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Günter Niegisch

für meine Mutter, für meine Mutter, für meine Mutter
für meinen Vater

I Zusammenfassung

Eine der häufigsten diagnostizierten Krebserkrankungen in der Schwangerschaft ist das Zervixkarzinom bzw. die Diagnose einer ihrer Vorstufen. Hierbei darf das klinische Spannungsfeld zwischen möglichst non-invasiver und stadiengerechter Therapie nicht dazu führen, dysplastische Veränderungen zu unterdiagnostizieren oder gar zu verkennen. Gleichzeitig sollten schwangerschaftsbedingte physiologische Epithelveränderungen nicht zur Übertherapie führen. Entsprechend beschriebene Regressions- und Progressionsraten in der Literatur legitimieren den Behandlungsalgorithmus eines abwartenden Therapiemanagements bis zur Geburt. In der hier vorliegenden Arbeit stellte sich die Frage, ob und inwiefern die adjuvanten Methoden zur Präzisierung der Diagnostik beitragen können, um auf diese Weise diagnostische Treffsicherheiten zu erhöhen bzw. Fehlerquellen zu reduzieren.

In der hier vorliegenden Kohortenstudie wurde der natürliche Verlauf zervikaler Veränderungen in der Schwangerschaft anhand von auffälligen Zellabstrichen, teils bereits primär mittels Sondermethoden der DNA-Bildzytometrie und/oder CINtec Plus retrospektiv ergänzt, ausgewertet. Alle Abstriche stammen aus der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik des Universitätsklinikums Düsseldorf. Insgesamt umfasste die Kohorte 119 Schwangere zwischen 19 und 43 Jahren (Mittelwert: $30,5 \pm 5,2$ [SD]), von denen 111 einen Befund der Gruppe Pap IIID oder höher aufwiesen (Pap IIID: $n=75$ (63,0%), Pap IVa: $n=36$ (30,3%)). Hiervon waren 80 Fälle histologisch gesichert, wobei in 70 (87,5%) von ihnen wenigstens eine der beiden Sondermethoden angewandt wurde (DNA-Bildzytometrie: $n=56$ (70%), CINtec Plus: $n=34$ (42,5%)).

Bei insgesamt 47 Schwangeren mit einem Erstbefund der Gruppe Pap IIID oder höher zeigte sich in 10 Fällen (21,3%) im zytologischen Verlauf eine Progression zum Pap IVa, in 4 Fällen eine Regression (8,5%). In der Gruppe der erstdiagnostizierten Pap IVa/b ($n=28$) entwickelte sich lediglich ein Fall zytologisch zu einem Pap V (3,6%), wohingegen 4 Fälle (14,3%) sich regredient verhielten. Die meisten Fälle zeigten persistierende Befunde (64,3%).

Bei Berücksichtigung aller zytologisch auffälligen Befunde liegt die Regressionsrate bei 10,7% und gleicht der bei Berücksichtigung der histologischen Korrelation (11,3%). Die Progressionsrate hingegen liegt deutlich niedriger als die unter histologischer Berücksichtigung (14,7% vs. 37,5%). Histologisch entwickelten sich 29 Fälle der Befundgruppe Pap IIID zu einer CIN 3 und ein Fall der Gruppe Pap IVa zu einem Zervixkarzinom. In 10 Fällen korrelierte der zytologische Erstbefund mit der histologischen Diagnose (12,5%).

DNA-bildzytometrisch lässt sich in der Befundgruppe der Pap IVa/b bis zu 92,3% der Fälle eine Aneuploidie nachweisen, in der Gruppe der Pap IIID liegt die Rate deutlich niedriger bei maximal 53,3%. Ein ähnlicher Trend zeigt sich in der histologischen Gruppe der CIN 1/2, in der in 50% der Fälle eine Aneuploidie nachgewiesen wurde. Absolut liegt die Anzahl der als Pap IIID diagnostizierten Fälle höher als im histologischen Pendant der Gruppe CIN 2, was den dynamischen Verlauf in regredienter bzw. progredienter Richtung bestätigt.

Immunzytochemisch ließen sich folgende Detektionsraten bestimmen: in der Gruppe der Pap IVa/b konnten bis zu 84,2% als CINtec positiv gewertet werden, in der Gruppe der Pap IIID lediglich bis zu 50%. Bei der Hälfte dieser Fälle ergab sich somit kein Korrelat für eine transformierende Form einer HPV-Infektion.

Die histologische Korrelation zeigte, dass bis zu 70,0% der immunzytologisch untersuchten Biopsien als CINtec positiv diagnostiziert wurden (\leq CIN 1/2: 66,7% bzw. CIN 3: 70,0%). In 30,0% der hochgradigen Läsionen wurde kein histologisches Korrelat dargestellt.

Im Rahmen der hier untersuchten Diagnostikmethoden blieben gewisse Diskrepanzen sowohl longitudinal in der Zytologie als auch in der Korrelation zur Histologie. Diesen können Ursache unterschiedlicher Art zugrunde liegen. Insbesondere geht es dabei um die Repräsentativität der Gewebsentnahme (*sampling error*) und die Erkennung und Einordnung der Zell- und Gewebsbilder (*screening error* und *interpretation error*), aber auch die bei subjektiven Verfahren nicht uneingeschränkte Reproduzierbarkeit (*interobserver reproducibility*). Die Überweisung von Schwangeren mit auffälligem Pap-Abstrich in zertifizierte Dysplasiesprechstunden ist insgesamt eine Möglichkeit zur verbesserten Diagnostik. Aufgrund interdisziplinärer Kompetenzen im Bereich der Gynäkologie, Pathologie sowie Psychologie können Schwangere aufgefangen und umfassend begleitet werden, wobei die Rolle der Pathologie insbesondere darin liegt, neben konventionellen Methoden auch dem Fach zugehörige Sondermethoden gezielt und befundabhängig einzusetzen.

II Abstract

One of the most commonly diagnosed cancers during pregnancy is cervical cancer or the diagnosis of one of its precursors. The clinical tension between therapy that is as non-invasive as possible and that is stage-related should not lead to underdiagnosis or even misdiagnosis of dysplastic changes. At the same time, normal pregnancy-related epithelial changes should not lead to overtreatment. Correspondingly described regression and progression rates in the literature legitimise the treatment algorithm of a form of therapy management that waits until birth. The question in this paper is whether and to what extent the adjuvant methods can contribute to achieving more precision in diagnostics in order to increase diagnostic accuracy or reduce sources of error.

In the present cohort study, the natural course of cervical changes during pregnancy was evaluated on the basis of abnormal cell smears, in some cases already supplemented retrospectively, primarily by special methods of DNA image cytometry and/or CINtec Plus. All swabs come from the dysplasia clinic of the Women's Health Department at the University Hospital of Düsseldorf. Overall, the cohort included 119 pregnant women aged between 19 and 43 years (mean: 30.5 ± 5.2 [SD]), 111 of whom had a finding of group Pap IIID or higher (Pap IIID: n=75 (63.0%), Pap IVa: n=36 (30.3%)). Of these, 80 cases were confirmed histologically, with at least one of the two special methods being used in 70 (87.5%) of them (DNA image cytometry: n=56 (70%), CINtec Plus: n=34 (42.5%)).

Of a total of 47 pregnant women with an initial finding of group Pap IIID or higher, the cytological progress demonstrated a progression to Pap IVa in 10 cases (21.3%), and a regression in 4 cases (8.5%). In the group of those initially diagnosed as Pap IVa/b (n=28), only one case cytologically developed into Pap V (3.6%), whereas 4 cases (14.3%) behaved in a regressive manner. Most cases showed persistent findings (64.3%).

Taking into account all cytologically abnormal findings, the regression rate is 10.7% and is equal to the one taking histological correlation into account (11.3%). The progression rate, on the other hand, is significantly lower than that when considering histology (14.7% vs. 37.5%). Histologically, 29 cases in the Pap IIID group developed into CIN 3, and one case of the Pap IVa group into cervical cancer. In 10 cases, the initial cytological findings correlated with the histological diagnosis (12.5%).

In the DNA image cytometry, aneuploidy was detected in up to 92.3% of the cases in the group with a Pap IVa/b finding, while, in the Pap IIID group, the rate was significantly lower at a maximum of 53.3%. A similar trend is seen in the histological CIN 1/2 group,

in which aneuploidy was detected in 50% of cases. In absolute terms, the number of cases diagnosed as Pap IIID is higher than in the histological counterpart of the CIN 2 group, which confirms the dynamic course taken in the regressive or progressive direction.

Immunocytochemically, the following detection rates could be determined: in the Pap IVa/b group, up to 84.2% were evaluated as CINtec positive, while the same was true of only up to 50% in the Pap IIID group. In half of these cases, no correlation was found for a transforming form of HPV infection.

The histological correlation showed that up to 70.0% of the immunocytologically examined biopsies were diagnosed as CINtec positive (\leq CIN 1/2: 66.7% and CIN 3: 70.0%, respectively). In 30.0% of the high-grade lesions, no histological correlate was shown.

Within the scope of the diagnostic methods investigated here, certain discrepancies remained both longitudinally, within the cytology, and in the correlation to the histology. There are various possible causes for this. In particular, one must consider the representativeness of the sampling (*sampling error*) and the recognition and classification of the cell and tissue images (*screening error* and *interpretation error*), but also the reproducibility which is not unlimited in the case of subjective methods (*interobserver reproducibility*). The referral of pregnant women with an abnormal Pap smear to certified dysplasia clinics is, overall, an option for improved diagnostics. Due to interdisciplinary competencies in the fields of gynaecology, pathology and psychology, pregnant women can be accommodated and supported comprehensively, whereby the role of pathology, in particular, lies in the targeted use, based on the findings, of special methods associated with the subject, in addition to conventional methods.

III Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGC	atypical glandular cells
AIS	Adenocarcinoma in situ
an	aneuploid
ASC-H	<i>atypical squamous cells with high-grade atypia</i>
ASC-US	<i>atypical squamous cells of undetermined significance</i>
BMDP	<i>Bio-Medical Data Package</i>
Ca	Carcinoma, Karzinom
CC	Korrelationskoeffizient, <i>correlation coefficient</i>
CI	Konfidenzintervall, <i>confidence interval</i>
CIS	Carcinoma in situ
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie, <i>cervical intraepithelial neoplasia</i>
CTG	Cardiotokografie
CV	Variationskoeffizient, <i>coefficient of variation</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure, <i>desoxyribonucleic acid</i>
DS	Doppelfärbung, <i>dual stain</i>
ECC	endozervikale Kürettage, <i>endocervical curettage</i>
ESACP	<i>European Society of Analytical and Cellular Pathology</i>
et al.	und andere [et alii (Maskulinum), et aliae (Femininum), et alia (Neutrum)]
eu	euploid
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GBA	Gemeinsamer Bundesausschuss
ges	gesamt
HC2	<i>Hybrid-Capture-2-Test</i>
HDI	<i>Human Development Index</i>
HPV	Humane Papillomviren
HR	<i>High-Risk</i>
HSIL	<i>high-grade squamous intraepithelial lesions</i>
ICD	<i>International Statistical Classification of Diseases</i>
IOD	integrierte optische Dichte
KoKoZyt	Koordinations-Konferenz Zytologie
KFE-RL	Krebsfrüherkennungs-Richtlinie

LEEP	<i>loop electrosurgical excision procedure</i>
LL	Leitlinie
LR	<i>Low-Risk</i>
LSIL	<i>low grade squamous intraepithelial lesions</i>
MN	Münchener Nomenklatur
neg	negativ
NILM	<i>negative for intraepithelial lesion or malignancy</i>
NOS	<i>not otherwise specified</i>
p	p-Wert beim Pearson Chi ² -Test
PCR	Polymerase-Kettenreaktion, <i>polymerase chain reaction</i>
PE	Probeexzision
pos	positiv
PPV	positiver Prädiktionswert, <i>positive predictive value</i>
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure, <i>ribonucleic acid</i>
SD	Standardabweichung, <i>standard deviation</i>
SSW	Schwangerschaftswoche
STIKO	Ständige Impfkommission
UKD	Universitätsklinikum Düsseldorf
WHO	<i>World Health Organization</i>
Wo.	Woche

IV Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Gebärmutterhalskrebsfrüherkennung.....	1
1.2 Gynäkologische Zytodiagnostik und Standardisierung durch die Münchener Nomenklatur II/III	4
1.3 Zytologische Diagnostik in der Schwangerschaft.....	6
1.4 Adjuvante Methoden zur Abstrichdiagnostik in der Schwangerschaft.....	8
1.4.1 DNA-Bildzytometrie	9
1.4.2 CINtec Plus-Immunzytochemie	11
1.5 HPV-Testung in der gynäkologischen Krebsvorsorge	12
1.6 Histologische Gewebeentnahme und Kolposkopie	13
1.7 Problemstellung und Ziel der Arbeit.....	15
2 Material und Methoden	17
2.1 Patientinnenkollektiv.....	17
2.2 Befunderhebung	18
2.2.1 DNA-bildzytometrische Untersuchung	18
2.2.2 CINtec Plus-immunzytochemische Untersuchung	21
2.3. Datenerfassung und -auswertung	26
2.4. Statistik	27
3 Ergebnisse	28
3.1 Allgemeine Übersicht zum Patientinnenkollektiv	28
3.2 Allgemeine Übersicht zum Patientinnenkollektiv mit postpartaler Histologie	30
3.3 DNA-Bildzytometrie als adjuvante Messmethode bei Patientinnen mit gesicherter Histologie	34
3.4 CINtec Plus-Immunzytochemie als adjuvante Methode bei Patientinnen mit gesicherter Histologie	39
3.5 Kombinierte Betrachtung von DNA-Bildzytometrie und CINtec Plus bei Patientinnen mit gesicherter Histologie	44

3.6	Besondere Fälle und Verläufe	48
3.6.1	Zwischenzeitlich zytologisch unauffälliger Kontrollbefund bei insgesamt auffälligem Verlauf und histologisch gesicherter CIN 3	48
3.6.2	Unauffälliger Befund bei Erstvorstellung nach Überweisung aufgrund auffälliger Zytodiagnostik	49
3.6.3	Schwangerschaftsverläufe mit zytologisch-histologischer Diskrepanz	49
4	Diskussion	50
4.1	<i>Follow up</i> zervikaler Veränderungen bei Schwangeren und ihr natürlicher Verlauf.....	50
4.1.1	Der Vergleich zu Nicht-Schwangeren und Einordnung in die Literatur	53
4.1.2	Therapiemanagement und Algorithmus in der Schwangerschaft	55
4.1.3	Fehlerquellen und -interpretation: Grenzen morphologischer Diagnostik.....	58
4.2	Möglichkeiten und Grenzen adjuvanter Methoden im Therapiemanagement.....	61
4.2.1	DNA-Bildzytometrie als klinische Sondermethode	62
4.2.2	CINtec Plus als klinische Sondermethode	64
4.2.3	DNA-Bildzytometrie und CINtec Plus: Stellenwert und Perspektive der adjuvanter Methoden in der Schwangerschaftsvorsorge	67
5	Literatur- und Quellenverzeichnis	71
Danksagung		

1 Einleitung

1.1 Gebärmutterhalskrebsfrüherkennung

Eine der häufigsten diagnostizierten Krebserkrankungen in der Schwangerschaft ist das Zervixkarzinom. Im Rahmen der Krebsfrüherkennung können Frauen eine von der gesetzlichen Krankenkasse übernommene Vorsorgeuntersuchung wahrnehmen. Der Zellabstrich des Gebärmutterhalses, der sog. Pap-Test (benannt nach dem griechischen Arzt George N. Papanicolaou), ist dabei bis heute im altersabhängigen Untersuchungsintervall eine der wichtigsten Routineuntersuchungen. So können dysplastische Zellveränderungen am Gebärmutterhals rechtzeitig erkannt werden, noch bevor sich diese zu präkanzerösen Läsionen oder gar zu einem manifesten Zervixkarzinom entwickeln. Anders als bei anderen Krebsfrüherkennungsmaßnahmen der gesetzlichen Krankenkassen, wie z.B. dem Mammographie-Screening-Programm, an das Frauen im anspruchsberechtigten Alter alle zwei Jahre schriftlich erinnert werden, war ein Programmcharakter zur Früherkennung von Gebärmutterhalskrebs bis Ende 2019 nicht gegeben. Zum 01.01.2020 trat die Änderung der Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme vom 05.12.2019 in Kraft, die eine wesentliche Umstellung der Früherkennung von Zervixkarzinomen und ihrer Vorstufen mit sich brachte und neben der Zytologie auch der Testung auf Humane Papillomaviren (HPV) vom *High-Risk*-Typ (HPV-HR) eine große Bedeutung einräumt.

Nahezu allen Zervixkarzinomen und ihrer Vorstufen (> 95%) liegt eine persistierende HPV-Infektion zugrunde, wobei es sich in etwa 60-80% der Zervixkarzinome um Infektionen mit den HPV-Typen 16 bzw. 18 handelt [1, 2]. Daher gibt es heute Bestrebungen zur primären Prävention der Erkrankung, dass Mädchen als auch Jungen gegen HPV geimpft werden sollen. Bereits seit 2007 gibt es die Empfehlung der Deutschen Ständigen Impfkommision (STIKO) zur Impfung von Mädchen gegen verschiedene Typen der Humanen Papillomaviren. Das Impfalter wurde von 12 bis 17 auf 9 bis 14 Jahre herabgesetzt, um einer möglichen HPV-Infektion vor sexueller Aktivität entgegenzuwirken (Stand August 2014). Zudem belegen Studien eine höhere Antikörper-Antwort auf HPV 16 und 18 bei jüngerem Impfalter der Mädchen [3]. Inzwischen wurden Impfeempfehlungen auch für Jungen von der STIKO entwickelt. Kommerziell erhältlich sind in Deutschland derzeit zwei verschiedene Impfstoffkombinationen, von denen eine rein gegen die HPV-Typen 16 und 18 gerichtet ist (Cervarix®), die andere zusätzlich auch gegen die HPV-Typen 6, 11, 31, 33, 45, 52 und 58 (Gardasil 9®); gegen weitere HPV-Typen wird aktuell eine mögliche Kreuzimmunität

durch die Impfung diskutiert. Dysplastische Läsionen und Zervixkarzinome können auch durch Infektionen mit anderen HPV-Viren begünstigt bzw. ausgelöst werden, sodass die HPV-Impfung kein Garant für den Schutz gegen eine HPV-Infektion oder Tumorbildung ist. Entsprechend ist sie auch kein Ersatz für die gynäkologischen Vorsorgeuntersuchungen. Die genaue Pathogenese des Zervixkarzinoms, also wie es von der offenbar fast immer zugrunde liegenden HPV-Infektion zur definitiven malignen Transformation von Epithelzellen kommt, ist bis dato nicht in allen Schritten geklärt. Neben der HPV-Infektion werden Ko-Faktoren, wie z.B. Tabakkonsum, Immunsuppression, Langzeiteinnahme von oralen Kontrazeptiva, so wie die Anzahl der Geburten oder wechselnde Geschlechtspartner diskutiert [4].

Das Angebot einer gynäkologischen Vorsorgeuntersuchung zur Sekundärprävention wurde in Deutschland bisher eher eigeninitiativ von Patientinnen in Anspruch genommen. Laut des Zentralinstituts der Kassenärztlichen Versorgung (Kassenärztliche Vereinigung Nordrhein und Bremen) ließen sich 80% der unter 30-jährigen Frauen innerhalb eines dreijährigen Intervalls vorsorglich untersuchen und 70% der unter 50-jährigen Frauen. Bei Frauen unter 65 Jahren lag die Quote noch bei über 60%, erst danach nahm sie deutlich ab (Tabelle 1) [5].

Altersgruppe Jahre	Inanspruchnahme Zervix-Früherkennung %
20-24	79,0
24-29	81,1
30-34	79,3
35-39	76,7
40-44	73,5
45-49	71,7
50-54	69,2
55-59	65,7
60-64	61,7
65-69	54,4
70-74	42,2
75-79	31,3
> 80	16,3

Tabelle 1: Inanspruchnahme der Gebärmutterhalskrebsfrüherkennung innerhalb eines 3-jährigen Intervalls von 2002-2004 [6]

Seit Einführung des Pap-Abstrichs als Vorsorgeleistung in den 1970er Jahren lässt sich eine deutliche Senkung der Neuerkrankungen und Mortalität an Gebärmutterhalskrebs beobachten. Trotz weniger ausgeprägtem Rückgang seit Anfang der 1990er Jahre zeigt sich insgesamt etwa eine Halbierung der Erkrankungs- und Sterberate (Abb.1, [7]).

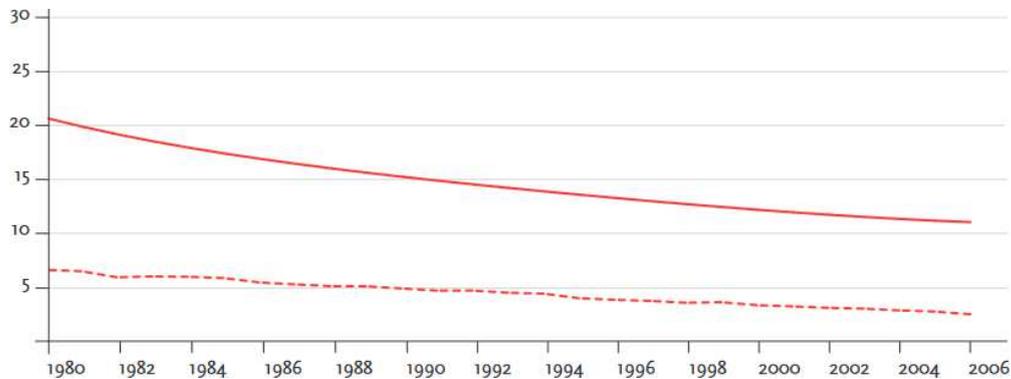


Abb. 1: **Altersstandardisierte Neuerkrankungs- und Sterberate in Deutschland 1980-2006**, ICD-10 C53, Robert Koch-Institut, 2010, Fälle pro 100.000. Durchgezogene Linie: Erkrankungsrate, gestrichelte Linie: Sterberate; aus [7]

Nach aktuellen Angaben des Robert Koch-Instituts wurden 2018 etwa 4320 Neuerkrankungen und 1612 Sterbefälle erfasst, während es zu Beginn der 1980er Jahre noch fast dreimal so viele waren [8]. Eine weitgehende Stabilisierung der Inzidenz und Mortalität lässt sich ab 2005 verzeichnen (Abb.2).

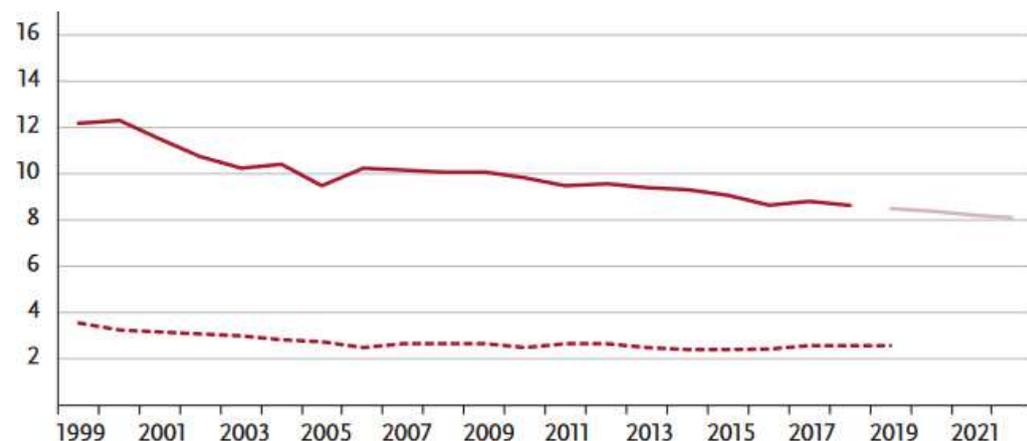


Abb. 2: **Altersstandardisierte Erkrankungs- und Sterberate in Deutschland 1999-2018/2019**, ICD-10C53, Prognose (Inzidenz) bis 2022, Robert Koch-Institut, 2019, je 100.000 Frauen. Durchgezogene Linie: Erkrankungsrate mit Prognose, gestrichelte Linie: Sterberate; aus [8]

1.2 Gynäkologische Zytodiagnostik und Standardisierung durch die Münchner Nomenklatur II/III

Der sogenannte Pap-Test ist ein zytologischer Abstrich des Zervixkanals und der Portio, der in Routineuntersuchungen zur gynäkologischen Krebsprävention entnommen wird. Benannt und zurückzuführen ist dieser auf den in New York tätigen griechischen Pathologen George N. Papanicolaou (1883-1962), der seit 1923 zytologische Abstrichuntersuchungen durchführte und entsprechende Ergebnisse erstmalig 1928 vorstellte [9].

Der Abstrich wird mithilfe eines Abnahmeinstruments, wie z.B. einer Bürste, genommen. Die Zellentnahme sollte möglichst am kolposkopisch sichtbaren Übergang zwischen dem ektozervikalen Plattenepithel und dem endozervikalen Zylinderepithel erfolgen, da sich Zervixkarzinome vermehrt in dieser Grenzregion, auch Transformationszone genannt, entwickeln. Diese unterliegt altersabhängig hormonellen Veränderungen, sodass sie sich mit zunehmendem Alter in Richtung Endozervix verschiebt [4]. Das gewonnene Zellmaterial wird klassischerweise auf einem Objektträger ausgestrichen und nach Fixierung mit 96%igem Ethanol zur Färbung gegeben. Alternativ kann das entnommene Zellmaterial auch zwecks späterer Herstellung eines Dünnschichtpräparates in eine alkoholische Fixationslösung gegeben werden.

Die ebenfalls nach Papanicolaou benannte Färbemethode ermöglicht die mikroskopische Befundung durch Kernfärbung mit Hämatoxylin und Plasmafärbung mit Orange G und Polychromlösung. Dadurch können morphologische Veränderungen dysplastischer Zellen, die sich meist in erster Linie auf den Zellkern beziehen, nach gewissen Malignitätskriterien ausgewertet werden. Dazu zählen u.a. atypische Chromatinstruktur, zugunsten der Kerne verschobene Kern-Plasma-Relation, Kernpolymorphie, sowie Nukleolusbildung [10]. Außerdem lassen sich auch für HPV-Infektionen typische Zellen mit perinukleären Aufhellungen und auffälligen Kernen, sogenannte Koilozyten, diagnostisch interpretieren.

Die Klassifizierung der gynäkologischen Zytodiagnostik nach Papanicolaou orientierte sich in Deutschland bis 2014 an der Münchner Nomenklatur II, einem standardisierten Befundschema, das 1990 eingeführt worden war. Diese Nomenklatur bedurfte einer Aktualisierung bzw. Präzisierung, die u.a. die Standardisierung zytologischer Befunde verbessern und eine einfachere Gegenüberstellung der Befunde mit dem internationalen Bethesda System (1988) ermöglichen sollte [11]. Im Juli 2014 verabschiedete die Koordinations-Konferenz Zytologie (KoKoZyt) die neue Münchner Nomenklatur III, die

seit 2015 verbindlich in Deutschland gilt. Sie weist im Wesentlichen folgende Änderungen auf [11]:

- Suffixe zur Unterscheidung von Subgruppen mit leichter bis mäßiger Dysplasie, sowie von Neoplasien des Platten- und Drüsenepithels,
- Sensitivitätssteigerung bei korrekter Anwendung der neu klassifizierten Gruppe II, ohne Minderung der Spezifität,
- Verbesserung der Befundkriterien für den Einsatz von Differentialkolposkopie und Korrelation mit Histologie,
- fast vollständige Übersetzbarkeit in das Bethesda System.

Da sich die Datenerfassung und -auswertung der hier vorliegenden Arbeit auf Abstriche von Patientinnen beziehen, die sich noch vor der Aktualisierung der Münchner Nomenklatur II zur Untersuchung vorstellten, werden sich entsprechende Befunde auch weiterhin an dieser orientieren. Der Vollständigkeit halber werden in der folgenden Tabelle 2 alle drei erwähnten Befundsysteme als Übersicht aufgeführt.

MN III (2014)	MN II (1990)	Definition	Korrelat in Bethesda
0	0	unzureichendes Material → Abstrichwiederholung	Unsatisfactory for evaluation NILM
I	I/II	unauffällige/unverdächtige Befunde → Abstrich im Screening-Intervall	NILM
II-a	II/IW	unauffällige Befunde bei auffälliger Anamnese → ggf. zytologische Kontrolle wegen auffälliger Anamnese (zytologischer/histologischer/kolposkopischer/klinischer Befund)	NILM
II	II	Befunde mit eingeschränkt protektivem Wert	
II-p	IW	Plattenepithelzellen mit geringergradigen Kernveränderungen als bei CIN 1, auch mit koilozytärem Zytoplasma/Parakeratose → ggf. zytologische Kontrolle unter Berücksichtigung von Anamnese und klinischem Befund (evtl. nach Entzündungsbehandlung und/oder hormoneller Aufhellung; in besonderen Fällen additive Methoden und/oder Kolposkopie)	ASC-US
II-g	IW	Zervikale Drüsenzellen mit Anomalien, die über das Spektrum reaktiver Veränderungen hinausreichen → ggf. zytologische Kontrolle in Abhängigkeit von Anamnese und klinischem Befund (evtl. nach Entzündungsbehandlung; in besonderen Fällen additive Methoden und/oder Kolposkopie)	AGC endocervical NOS
II-e	II/IW/III	Endometriumzellen bei Frauen > 40. Lebensjahr in der zweiten Zyklushälfte → Klinische Kontrolle unter Berücksichtigung von Anamnese und klinischem Befund	Endometrial cells
III	III	Unklare bzw. zweifelhafte Befunde	
III-p	III	CIN 2/CIN 3/Plattenepithelkarzinom nicht sicher auszuschließen → Differentialkolposkopie, ggf. additive Methoden, evtl. kurzfristige zytologische Kontrolle nach Entzündungsbehandlung und/oder hormoneller Aufhellung	ASC-H
III-g	III	Ausgeprägte Atypien des Drüsenepithels, Adenocarcinoma in situ / invasives Adenokarzinom nicht auszuschließen → Differentialkolposkopie, ggf. additive Methoden	AGC endocervical favor neoplastic
III-e	III	Abnorme endometriale Zellen (insbesondere postmenopausal) → weiterführende klinische Diagnostik, ggf. mit histologischer Klärung	AGC endometrial
III-x	III	Zweifelhafte Drüsenzellen ungewissen Ursprungs → weiterführende Diagnostik (z.B. fraktionierte Abrasio, ggf. additive Methoden/Differentialkolposkopie)	AGC favor neoplastic

IIID	IIID	Dysplasiebefunde mit größerer Regressionsneigung	
IIID1	IIID	Zellbild einer leichten Dysplasie analog CIN 1 → Zytologische Kontrolle in sechs Monaten, bei Persistenz > ein Jahr: ggf. additive Methoden/Differentialkolposkopie durch gezielte Biopsie	LSIL
IIID2	IIID	Zellbild einer mäßigen Dysplasie analog CIN 2 → zytologische Kontrolle in drei Monaten, bei Persistenz > sechs Monate: Differentialkolposkopie, ggf. additive Methoden, gezielte Biopsie	HSIL
IV	IV	Unmittelbare Vorstadien des Zervixkarzinoms → <i>Differentialkolposkopie und Therapie</i>	
IVa-p	IVa	Zellbild einer schweren Dysplasie/eines Carcinoma in situ analog CIN 3	HSIL
IVa-g	IVa	Zellbild eines Adenocarcinoma in situ	AIS
IVb-p	IVb	Zellbild einer CIN 3, Invasion nicht auszuschließen	HSIL with features suspicious for invasion
IVb-g	IVb	Zellbild eines Adenocarcinoma in situ, Invasion nicht auszuschließen	AIS with features suspicious for invasion
V	V	Malignome → <i>weiterführende Diagnostik mit Histologie und Therapie</i>	
V-p	V	Plattenepithelkarzinom	Squamous cell carcinoma
V-g	V	Endozervikales Adenokarzinom	Endocervical adenocarcinoma
V-e	V	Endometriales Adenokarzinom	Endometrial adenocarcinoma
V-x	V	Andere Malignome, auch unklaren Ursprungs	other malignant neoplasms

Tabelle 2: **Münchener Nomenklaturen (MN) II/III in Korrelation mit dem Bethesda System** [11]

1.3 Zytologische Diagnostik in der Schwangerschaft

In der Schwangerschaft dienen spezielle Vorsorgeuntersuchungen der engmaschigen Kontrolle des Schwangerschaftsverlaufs, der Entwicklung des Kindes, sowie des Gesundheitszustandes der Mutter. In welchem Umfang eine gynäkologische Betreuung stattfinden soll, ist in den „Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über ärztliche Betreuung in der Schwangerschaft und nach der Entbindung“ (kurz: Mutterschafts-Richtlinien) geregelt [12]. Eine Zusammenfassung allgemeiner Vorsorgeuntersuchungen folgt in tabellarischer Übersicht (Tabelle 3).

Ein Pap-Test ist in der Schwangerschaft routinemäßig nicht explizit vorgesehen, wird aber in der Regel mindestens einmal, häufig auch mehrfach durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung unserer Studie galt noch die alte Krebsfrüherkennungs-Richtlinie (KFE-RL) des Gemeinsamen Bundesausschusses, sodass im Rahmen der jährlichen allgemeinen Vorsorgeuntersuchung altersunabhängig u.a. ein Pap-Abstrich durchgeführt werden konnte. Mit Änderung der KFE-RL vom 05.12.2019 wurden die Früherkennungsmaßnahmen zur Krebsprävention neu organisiert. So haben gesetzlich versicherte Frauen zwischen 20 und 34 Jahren wie zuvor jährlich einen Anspruch auf

eine zytologische Pap-Abstrichuntersuchung, bei Frauen ab 35 Jahren hingegen wird nur noch alle drei Jahre die zytologische Untersuchung als Ko-Testung mit HPV-Test angeboten [13]. In diesem Zusammenhang können auch Schwangere die Krebsfrüherkennungsuntersuchung als kassenärztliche Leistung wahrnehmen, sofern diese bislang in den vorgesehenen Untersuchungszeiträumen noch nicht erfolgt ist. Bei rechtfertigender Indikation können auch weitere Abstriche während der Schwangerschaft auf Kosten der gesetzlichen Krankenkasse vorgenommen werden, sogenannte „kurative Abstriche“, z.B. bei Ausfluss, Schmierblutungen oder Entzündungsverdacht. Der Anspruch auf diese Untersuchung, sowie die Befundung unterliegen prinzipiell den Kriterien, wie sie auch bei nicht schwangeren Patientinnen gelten.

Zeitraum	Untersuchung
frühzeitig nach Feststellung der Schwangerschaft	Erstuntersuchung Anamnese Feststellung der Schwangerschaft; Mutterpass Gynäkologische Untersuchung Urin- & Blutuntersuchung
Bis zur 32.SSW alle vier Wochen, danach alle zwei Wochen	Mutterschaftsvorsorgeuntersuchungen, u.a. Messung von Gewicht und Blutdruck Bestimmung von Eiweiß- und Zuckergehalt, ggf. Bakterien über Urin, Hämoglobingehalt Stand der Gebärmutter, Herztöne, Kindslage
8. bis 12.SSW	Erste Ultraschalluntersuchung
19. bis 22.SSW	Zweite Ultraschalluntersuchung mit folgenden Optionen: Basis-Sonografie mit Biometrie Basis-Sonografie und zusätzlicher systematischer Untersuchung der fetalen Morphologie (Kopf, Hals/Rücken, Thorax, Rumpf)
25. bis 28.SSW	Screening auf Schwangerschaftsdiabetes
29. bis 32.SSW	Dritte Ultraschalluntersuchung
bei entsprechender Indikation	Veranlassung weiterer Zusatzmaßnahmen im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge, wie z.B. Dopplersonographie Kardiotokographie (CTG) Pränataldiagnostik

Tabelle 3: Allgemeine Vorsorgeuntersuchungen in der Schwangerschaft gemäß Mutterschafts-Richtlinien 2022

1.4 Adjuvante Methoden zur Abstrichdiagnostik in der Schwangerschaft

Der Pap-Test weist mit bis zu 98% eine hohe Spezifität auf und hat nachweislich zu einer Senkung der Erkrankungs- und Mortalitätsrate des Zervixkarzinoms geführt (siehe Abb. 1 und 2). Die Sensitivität des einmaligen Pap-Abstrichs zur Erkennung einer Läsion \geq CIN 2 hingegen liegt je nach Studie zwischen 50-80% [14, 15], in nationalen Studien liegt sie sogar nur bei 20-43,5% [16, 17]. Die individuelle Sensitivität kann jedoch in der Longitudinalbeobachtung, also bei jährlicher Wiederholung des Pap-Abstrichs, deutlich gesteigert werden auf über 90% [18].

Neben der hohen Rate falsch-negativer Abstriche, die sowohl auf einem *sampling error* als auch auf einem *screening error* beruhen können, ist ein weiteres Problem, dass die Zuordnung einer zytologischen Veränderung zu einer Gruppe IIID oder IVa aber allein nicht lösen kann, ob sich diese Läsion, wenn man sie denn belässt, regredient oder progredient verhalten wird. In einer Studie der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf wurden u.a. Regressions-, Remissions- und Progressionsraten von Zervixdysplasien im postpartalen Verlauf anhand von prä- und postpartalen zytologischen und histologischen Ergebnissen untersucht: Bei 35,9% heilte die Läsion aus, in 8,7% der Fälle kam es zu einer Regression und 3,9% der Fälle verhielten sich progredient. Bei knapp über der Hälfte (51,5%) der Patientinnen persistierte der Befund und blieb unverändert [19]. Daten zum Verhalten bzw. Verlauf zervikaler intraepithelialer Neoplasien (CIN) einer internationalen Studie (Ostör 1993) werden in Tabelle 4 zusammengefasst und zeigen, dass je höhergradiger die Läsion ist, desto geringer die Wahrscheinlichkeit der Regredienz und desto höher die Wahrscheinlichkeit der Persistenz oder gar Progredienz ist [20].

	Regression	Persistenz	Progression
CIN 1	60%	30%	10%
CIN 2	40%	40%	20%
CIN 3	33%	55%	12%

Tabelle 4: **Natürlicher Verlauf von CIN-Läsionen** [20]

Einen ähnlichen Trend vermittelt eine neuere kleinere Studie aus dem Jahr 2016 von Mailaith-Pokorny et al. [21], in der diagnostizierte CIN-Läsionen von 51 schwangeren mit denen von 51 nicht schwangeren Patientinnen in den oben genannten Tendenzen verglichen werden. Eine postpartale histopathologische Evaluation zeigte eine

signifikant höhere Tendenz zur Regression bei Schwangeren (56,9%) im Vergleich zur nicht schwangeren Kontrollgruppe (31,4%). Die Persistenzrate lag insgesamt bei der schwangeren Kohorte bei 39,2%, bei der nicht schwangeren bei 58,8%. Eine Übersicht des Verlaufs der CIN-Läsionen innerhalb der einzelnen Gruppen ist in Tabelle 5 dargestellt. Die regredienten Fälle der CIN 1/2 heilten vollständig aus, während die Remissionsrate in der Gruppe der CIN 3 bei nur knapp über 7% lag. Ähnlich dieser Studie analysierten Serati et al. (2008) ebenfalls eine signifikant höhere Regressionsrate bei Schwangeren im Vergleich zu nicht schwangeren Frauen [22]. Inwieweit dieser Studie eine verallgemeinernde Bedeutung zukommt, wird unten in der Diskussion angesprochen.

	CIN 1	CIN 2	CIN 3
Persistenz	11,8%	14,3%	63,0%
Progression	5,9%	14,3%	0,0%
Regression	82,4%	71,4%	37,0%
Remission	82,4%	71,4%	7,4%

Tabelle 5: **Histopathologischer CIN-Verlauf bei Schwangeren** [21]

Außerdem gibt es Zweifelsfälle, bei denen sich die Frage stellt, ob eine Läsion "wohl noch" Gruppe I / II (nach Münchner Nomenklatur II) oder "doch schon" Gruppe IIID ist bzw. gleichartig, ob man „noch IIID“ oder „bereits IVa“ klassifizieren muss. Auch hier wären adjuvante Methoden, die eine Aussage über den prospektiven biologischen Charakter der Läsion liefern und eine exaktere Therapieplanung ermöglichen würden, hilfreich.

Im Folgenden soll auf die beiden adjuvanten Methoden eingegangen werden, die in der eigenen Arbeit angewandt worden sind. Andere Anwendungen wie der Nachweis des L1-Kapsidproteins oder Verfahren, die sich auf eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) beziehen, werden hier nicht berücksichtigt.

1.4.1 DNA-Bildzytometrie

Die am Funktionsbereich Cytopathologie am Universitätsklinikum Düsseldorf (UKD) vorgehaltene DNA-Bildzytometrie hat zum Zweck, DNA-Aneuploidie an verdächtigen Zellpopulationen zu identifizieren bzw. auszuschließen.

Vom Prinzip her wird an Feulgen-gefärbten zytologischen Ausstrichen das DNA-Profil einer verdächtigen Zellpopulation bestimmt. Auch an gutartigen Zellpopulationen sind bestimmte Veränderungen des DNA-Profiles bekannt und gut definiert, beispielsweise erhöhte Proliferation (z.B. bei entzündlicher Regeneration) oder euploide Polyploidisierung (z. B. im Rahmen chronischer Anpassungsreaktionen). Der Nachweis von DNA-Aneuploidie nach den gängigen Kriterien der *European Society of Analytical and Cellular Pathology* (ESACP) als Stammlinienaneuploidie oder als Einzelzellaneuploidie ist aber mit einer malignen Transformation der Zellpopulation gleichzusetzen. Dies ermöglicht gerade bei Dysplasien oder anderen möglichen fakultativen Präkanzerosen mit einer hohen Präzision die Identifikation therapiepflichtiger Veränderungen. Entsprechende wissenschaftliche Erfahrungen liegen auf vielen Gebieten und auch in der Gynäkologie vor: an Dysplasien der Vulva [23], aber auch an der Ektozervix [24, 25], an der Endozervix [26] und am Endometrium [27]. Außerdem sind sie auch für die sehr spezielle und heterogene Gruppe Pap III der Münchner Nomenklatur belegt [28]. Insgesamt lässt sich sagen, dass der Nachweis von DNA-Aneuploidien ein deutlich erhöhtes Risiko für eine Progredienz der Läsion bedeutet.

Der positive prädiktive Wert (*positive predictive value*, PPV) für eine maligne Entartung gering- bis mittelgradiger Dysplasien in konventionellen Gebärmutterhalsabstrichen beträgt nur 13% [29]. Mittels international standardisierter DNA-Bildzytometrie kann dieser deutlich erhöht werden. Der PPV zur Vorhersage eines histologischen Befundes \geq CIN 3 schwankt laut Literatur zwischen 76% und 90%. Die Methode kann damit als adäquate Früherkennungsmaßnahme fakultativer Präkanzerosen gelten [29, 30]. Als Screeningmethode in der allgemeinen Vorsorge wird die DNA-Bildzytometrie aber nur im Zweifel als Entscheidungshilfe eingesetzt, da sie in Bezug auf den zeitlichen und finanziellen Faktor zu aufwendig und nicht ausreichend finanziert ist [10]. Sie wird derzeit (Stand 2022) als „Zytologische Untersuchung eines Materials mit DNA-Bestimmung“ laut Kassenärztliche Bundesvereinigung mit einer Kostenpauschale von 32,22 Euro vergütet. Der zeitliche Aufwand durch erfahrenes Befundungspersonal liegt bei ca. einer Stunde. Durch die Weiterentwicklung der DNA-Zytometrie hinsichtlich der Computer-gesteuerten Mikroskopie ist allerdings in Zukunft ein automatisches Scannen von Präparaten möglich, sodass der Aufwand zur Befundung durch Personal vermutlich deutlich reduziert werden kann. Mittels dieser Methode ist eine DNA-Messung erstmals als ergänzende Diagnostik bei auffälliger Vorbefundung in der Praxis wirtschaftlich denkbar. Inwieweit diese Entwicklung in der Krankenversorgung genutzt werden kann, wird sich erst zukünftig zeigen. Zuvor muss ihre prinzipielle Gleichwertigkeit mit der tradierten Untersucher-geführten DNA-Bildzytometrie belegt werden. Hierzu wurden am Funktionsbereich Cytopathologie verschiedene methodische Vergleichsstudien an

unterschiedlich präparierten zytologischen Ausstrichen vorgenommen, und zwar an Pleurapunktaten (Alkohol-fixierte Ausstriche) [31], an Prostatakarzinomen (Sedimentausstriche nach Zellvereinzelnung aus Paraffinblöcken) [32] und an Schilddrüsenpunktaten (luftgetrocknete Ausstriche) [33].

1.4.2 CINtec Plus-Immunzytochemie

Unter physiologischen Bedingungen wirkt die Expression von p16-Proteinen einer Zellproliferation entgegen und führt so zum Zellzyklusarrest. Dieser inhibitorische Effekt ist in transformierten Zellen trotz Expression von p16 aufgehoben, sodass eine unkontrollierte Zellteilung resultiert. Eine Überexpression kann immunzytochemisch dargestellt werden und gilt als Biomarker für Dysplasien. Der natürliche Gegenspieler im regulierten Zellzyklus ist das Protein Ki-67, das im Zellkern während der aktiven Zellteilung exprimiert wird.

Der gleichzeitige Nachweis von Ki-67 als Proliferationsmarker und p16 als Tumorsuppressor innerhalb einer Zelle gilt als Indikator für den prä-/kanzerösen Charakter plattenepithelialer Läsionen. Er zeigt das Vorliegen einer transformierenden HPV-Infektion an, was als Treiber für die Progredienz einer Läsion gesehen wird. Somit reicht theoretisch eine einzige CINtec Plus-positive Zelle zur Diagnose, um den Befund als auffällig zu interpretieren [34].

Die Herausforderung in der Praxis stellt die schlechte Sensitivität des einzelnen Pap-Tests dar, sodass sich hinter manchen unklaren oder auch niedrig dysplastischen Zytologiebefunden histologisch und biologisch hochgradige Läsionen verbergen. Hier könnte die CINtec Plus-Anwendung zu einer höheren diagnostischen Sicherheit beitragen, da sie eine signifikant höhere Sensitivität von 87% bei gleicher Spezifität aufweist [35]. Auch bei negativem Pap-Befund, aber positivem HPV-Test kann CINtec Plus als non-invasive Diagnostik zur Identifizierung erkrankter Patientinnen beitragen. CINtec Plus ist als immunzytochemische Methode ein Teil des Leistungsumfangs der gesetzlichen Krankenkassen, so dass die Kosten hierfür übernommen werden können, sofern die Leistung vom Fach Pathologie erbracht wird.

Durch die Reform der gynäkologischen Krebsvorsorge zum 01.01.2020 ist allerdings durch die deutliche Veränderung in der Konzeption der Vorsorge CINtec Plus eine Anwendung, die in den Hintergrund gerückt ist und nur noch selten eingesetzt wird.

1.5 HPV-Testung in der gynäkologischen Krebsvorsorge

Wie bereits erwähnt, wird die Entstehung dysplastischer Schleimhautläsionen und Entartung zum Zervixkarzinom u.a. mit einer zugrunde liegenden HPV-Infektion assoziiert. Die HPV-Viren lassen sich je nach Genotyp und Assoziation in *Low-Risk* (z.B. 6, 11, 42) und *High-Risk* (z.B. 16, 18) unterteilen. Während *Low-Risk*-HPV-Genotypen extrachromosomal lokalisiert sind, mit spitzen Kondylomen und CIN I-Läsionen assoziiert werden, sind *High-Risk*-HPV-Genotypen oft in das Genom zervikaler Zellkerne integriert [4]. Die Integration in den Chromosomensatz führt zu unregelmäßiger Chromosomenreplikation, sog. Aneuploidie, die sich wiederum mittels DNA-Bildzytometrie nachweisen lässt.

Der Nachweis der HPV-Viren erfolgt mit Hilfe von PCR-basierten Verfahren (*polymerase chain reaction*) oder HC2-Tests (*hybrid-capture-II-assay*), wobei 13 *High-Risk*- und 5 *Low-Risk*-HPV-Typen erfasst werden können [4]. Die Probeentnahme erfolgt mittels Bürstenabstrich vom Muttermund und Zervixkanal analog zum Pap-Abstrich. Wichtig dabei ist, die Bürste nicht vollständig in den Zervixkanal einzuführen, sondern die umliegende Portiooberfläche mit den äußeren Borsten zu erfassen. Im Vergleich zum Pap-Abstrich haben die HPV-Tests eine signifikant höhere Sensitivität (96,1%) bei geringerer Spezifität, eine CIN 2 oder CIN 3 zu erkennen [36, 37] (Tabelle 6). Die Spezifität nimmt jedoch mit dem Alter zu, bei jüngeren Patientinnen kommen transiente HPV-Infektionen häufiger vor [38]. In dieser Tatsache liegt auch mitbegründet, weswegen bei jüngeren Patientinnen in dem neuen Krebsvorsorgekonzept die Zytologie und bei älteren Patientinnen die HPV-Testung mehr im Vordergrund steht.

in %	HPV-Test	Zytologie
Sensitivität	96,1	53,0
Spezifität	90,7	96,3
PPV	15,5	20,3

Tabelle 6: **Sensitivität, Spezifität und positiver Prädiktionswert (PPV) des HPV-Tests, sowie Zytologie zur Erkennung von Läsionen \geq CIN 2** [37]

Bei der PCR handelt es sich um eine hochspezifische molekularbiologische Methode, bei der die Virus-DNA nach Denaturierung in ihre Einzelstränge mittels sog. Primern und Polymerasen exponentiell vervielfältigt wird. Anschließend können diese mit

Gensonden, die spezifisch sind für die jeweiligen *High-* bzw. *Low-Risk*-HPV-Genotypen, Hybride bilden und nachgewiesen werden.

Beim HC2-Test handelt es sich um einen weniger spezifischen Test, bei dem nach Denaturierung der Virus-DNA in Einzelstränge ein Konglomerat an Gensonden bekannter *High-* und *Low-Risk*-HPV-Genotypen hinzugefügt wird. Diese hybridisieren identische Basensequenzen des DNA-Einzelstrangs, die dann von spezifischen Antikörpern markiert werden. Diese wiederum werden von fluoreszierenden Antikörpern erfasst, die die Virus-DNA somit indirekt darstellen [10]. Der HC2-Test zeigt an, ob eine HPV-Infektion vorliegt, ermöglicht aber keine HPV-Typisierung.

Die Progredienz einer dysplastischen Läsion zum Zervixkarzinom lässt sich nicht allein durch den Nachweis einer HPV-Infektion vorhersagen, da bei einer Infektion HPV-DNA prinzipiell in allen transformierten Zellveränderungen – in leichten Dysplasien bis hin zum Zervixkarzinom – nachgewiesen werden und die Dysplasien auch spontan ausheilen können [39]. Dabei gelten allerdings die Persistenz einer Infektion mit *High-Risk*-HPV-Genotypen über einen längeren Zeitraum, sowie bereits erwähnte Ko-Faktoren, wie z.B. Tabakkonsum, als begünstigend für die Tumorentstehung [4].

Laut Angaben des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) sind 10 von 100 *High-Risk*-HPV-infizierten Frauen chronisch infiziert, weniger als 1% von ihnen erkranken im Durchschnitt nach 15 Jahren tatsächlich an einem Zervixkarzinom [40]. Bei einer spontanen Rückbildungsrate von 90% eignet sich die HPV-Testung zwar als Kontrollmethode, nicht aber als Screeningmethode. Gerade bei jungen Patientinnen sind transiente HPV-Infektionen häufiger als bei älteren [41]. Als Abklärungsmethode wird sie altersabhängig bei zytologisch auffälligen Abstrichen der Gruppen II-g, II-p und IIID empfohlen [13].

Für Patientinnen ab dem 35. Lebensjahr wird der HPV-Test neuerdings routinemäßig als Ko-Testung angeboten (siehe oben). In anderen Ländern, z.B. in den Niederlanden, ist die gynäkologische Krebsvorsorge auf einen alleinigen HPV-Test als primäre Maßnahme umgestellt worden, was aufgrund des erwähnten transienten Verhaltens kritisch zu hinterfragen ist.

1.6 Histologische Gewebeentnahme und Kolposkopie

Entscheidet man sich zu einer histologischen Gewebeentnahme, so erfolgt diese im Rahmen einer Kolposkopie. Bei dieser handelt es sich um eine klinische Untersuchung der Portiooberfläche und Vagina mittels speziellen Mikroskops bei bis zu 40-facher

Vergrößerung. Wichtig ist eine gute Sicht auf die Portio und Transformationszone. In der Schwangerschaft ist dies teils nur eingeschränkt möglich, sodass eine spätere Verlaufskontrolle zu empfehlen ist [41]. Zunächst wird im Rahmen einer einfachen Kolposkopie das rosafarbene Platten- bzw. stark durchblutete Zylinderepithel auf Farbe, Struktur, Niveauveränderung, sowie Vaskularisierung untersucht. Befunde, wie z.B. Mosaikbildung, Felderung, Punktierung, Erosionen, Gefäßveränderungen, sowie Leukoplakien, können Hinweise auf kanzerogene Geschehen sein und bedürfen einer weiteren Diagnostik [4, 10]. Die anschließende Funktionsdiagnostik visualisiert Epithelveränderungen und dient der besseren Darstellung. So werden auffällige Bereiche der Portio mit 3%iger und der Vulva mit 5%iger Essigsäurelösung betupft, wodurch das Epithel nach 30-60 Sekunden vorübergehend aufquillt. Je höher die Zelldichte und damit der Proteingehalt, desto weißer färbt sich das aufgequollene Epithel. Durch die verschobene Kern-Plasma-Relation in höhergradigen Dysplasien zeigen sich diese als opak weiße Leukoplakien [42, 43].

Ein weiteres Diagnostikverfahren ist die Schiller-Jodprobe, bei der eine 4%ige Lugol-Jodlösung auf die Portio und das Scheidengewölbe aufgetupft wird. Das Glykogen im gesunden Plattenepithel reagiert mit Jod und färbt es bräunlich rot, während transformierte Bereiche aufgrund fehlender Glykogenbildung keine Färbung zeigen [4, 43]. Werden jodnegative Areale kolposkopisch diagnostiziert, sind Biopsien indiziert.

Die Kolposkopie stellt eine Ergänzungsdiagnostik dar, die bereits vor Einführung der Reform der gynäkologischen Krebsvorsorge zum 01.01.2020 bei auffälliger Zytodiagnostik in Kombination mit einer histologischen Abklärung empfohlen wurde [41] und jetzt fester Bestandteil des Abklärungsalgorithmus geworden ist. Sie ist dabei bei bestimmten zytologischen Befundkonstellationen und in bestimmten Altersklassen auch unter Berücksichtigung des HPV-Status Teil der ergänzenden Abklärung und wird seit Beginn des Jahres 2020 in viel häufigerer Zahl als früher durchgeführt, in der Regel kombiniert mit der Entnahme histologischer Gewebeproben. Aufgrund geringer Spezifität von 48% [44] ist sie aber nicht als Screeningmethode einsetzbar, da auch gesunde Frauen, u.a. auch in der Schwangerschaft wegen physiologischer Gewebeveränderungen, auffällige Kolposkopiefunde aufweisen können [41].

Die Gewebeentnahme im Rahmen der Differentialkolposkopie wird mittels Knips- oder Stanzbiopsie am sog. kolposkopischen Punctum maximum, dem Areal mit auffälligster Epithelveränderung, gewonnen. Die Prävalenz auffälliger zytologischer Abstriche bei Schwangeren liegt laut Literatur zwischen 2 und 5%, die Rate histologisch verifizierter sogenannter HSIL-Läsionen (*high grade squamous intraepithelial lesion*) bei 0,4% und entspricht damit in etwa der der nicht-schwangeren Patientinnen [45-47]. Das Vorgehen

unterscheidet sich prinzipiell nicht voneinander und ist meist schmerzfrei. Eine gezielte Biopsie ist während der gesamten Schwangerschaft möglich, die Sicht kann jedoch aufgrund anatomischer und physiologischer Gegebenheiten eingeschränkt sein. Der empfohlene Zeitraum liegt daher zwischen der 16. und 20. Schwangerschaftswoche. Zudem gilt das Abort- und Blutungsrisiko als sehr gering [41, 48]. Frühzeitige Wehen konnten mit der Entnahme gezielter Biopsien nicht in Zusammenhang gebracht werden [49], dennoch sollte bei Schwangeren auf solche Biopsieentnahmen verzichtet werden, sofern unter guter Sicht eine invasive Dysplasie zweifelsfrei ausgeschlossen werden kann [50, 51].

Die Konisation ist ein wesentlich invasiveres Verfahren zur Gewebeentnahme, bei der je nach operativem Verfahren mittels elektrischer Schlinge per Laser ein Gewebekonus abgetragen wird. Die Schlingenkonisation, auch LEEP (*loop electrosurgical excision procedure*) genannt, ist gegenüber der heute als obsolet geltenden Abtragung mittels Skalpells gewebeschonender und somit das Mittel der Wahl. Sie kann zum diagnostischen Zweck oder als therapeutisches Verfahren durchgeführt werden. In der Schwangerschaft ist eine Konisation – abgesehen von sehr seltenen Fällen - nicht indiziert. Das Risiko für Frühgeburten, Komplikationen, Morbidität bis hin zum Abort ist laut Studienlage signifikant erhöht, weshalb eine abwartende Haltung bis nach der Geburt empfohlen wird [41, 42]. Die Möglichkeit der Endozervikalen Kürettage (ECC), bei der kolposkopisch auffällige Bereiche abradiert und histologisch untersucht werden, ist in der Schwangerschaft aufgrund der Gefahr einer Verletzung der Fruchtblase ebenfalls kontraindiziert [45].

1.7 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Aufgrund der besonderen Bedingungen der Schwangerschaft ist gerade unter der Voraussetzung, dass nicht alle Therapieverfahren zur Verfügung stehen und man möglichst gar nicht operativ tätig werden möchte, eine abwartende Haltung bei der invasiven Diagnostik und bei der Therapie von auffälligen zytologischen Befunden an Gebärmutterhalsabstrichen üblich. Auch in der zytologischen Diagnostik überlegt man sich gut, wie man bestimmte Veränderungen klassifizieren soll; dabei steht immer das Prinzip, der Patientin und ihrem ungeborenen Kind nicht zu schaden, im Vordergrund. Diese Vorstellung darf aber letztendlich nicht dazu führen, dass Veränderungen am Gebärmutterhals unterdiagnostiziert und untertherapiert werden. Die Idee hinter der hier vorgelegten Studie ist, in einer retrospektiven Kohortenstudie zu ermitteln, wie sich die Zellbilder von Abstrichen, die während der Schwangerschaft auffällig waren, über die

Zeit der Schwangerschaft und in einer postpartalen Periode verändert haben und wie sich das histologisch ermittelte Endergebnis über die Zeit darstellte. Dazu wurden die entsprechenden Fälle, konventionell und/oder mit den Sondermethoden der DNA-Bildzytometrie und der CINtec Plus-Immunzytochemie beurteilt, retrospektiv ausgewertet.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass sich in dieser Arbeit um eine geschlechtsneutrale Sprache bemüht wurde. Die verwendeten Personenbezeichnungen, sofern nicht verkürzt oder anders kenntlich gemacht, schließen selbstverständlich männliche, weibliche und alle anderen Geschlechtsidentitäten mit ein und dienen lediglich der besseren Lesbarkeit.

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer retrospektiven, epidemiologischen Kohortenstudie mit personenbezogenen Daten. Ein Ethikantrag wurde der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität eingereicht und genehmigt (Studennummer 4871 vom 15.07.2014: „Management, Diagnostik und Therapie von pathologischen Gebärmutterhalsabstrichen in der Schwangerschaft und der postpartale Verlauf – Stellenwert der DNA-Bildzytometrie und der HPV-Diagnostik“).

2.1 Patientinnenkollektiv

In diese Studie wurden zunächst alle Patientinnen eingeschlossen, die sich im Zeitraum von 2009 bis 2015 während ihrer Schwangerschaft in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik des UKD mit auffälligem oder unklaren Zervixabstrichen vorstellten. Bei drei Patientinnen wurden auch einzelne Folgebefunde von 2016 berücksichtigt, um den postpartalen Verlauf zu erfassen. Insgesamt handelt es sich um 119 Schwangere, von denen 111 bei Erstvorstellung einen Befund von Pap IIID oder höher aufwiesen. Diese waren zwischen 19 und 43 Jahre alt (Abb.3), was einem Mittelwert von $30,5 \pm 5,2$ [SD] und einem Median von 31 entspricht.

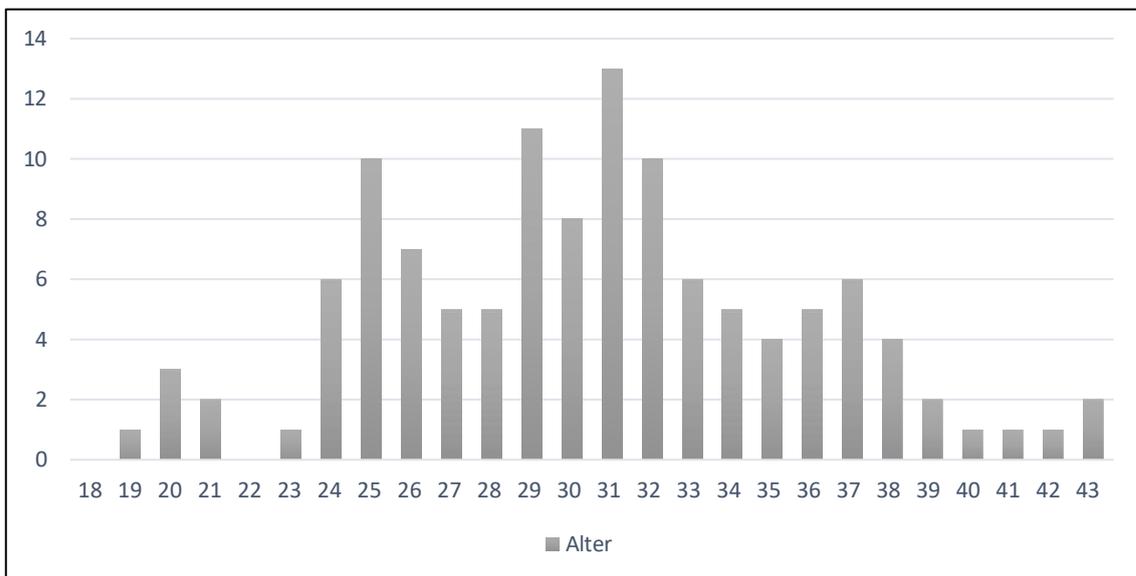


Abb. 3: Altersverteilung der Patientinnen

2.2 Befunderhebung

Alle Abstriche stammen von Schwangeren, die aufgrund eines auffälligen Zervixabstrichs im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge bei niedergelassenen GynäkologInnen in die Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik des UKD überwiesen wurden. Hier wurden u.a. erneut Pap-Abstriche genommen, die zur Befundung an das Institut für Cytopathologie (bis 2015 geleitet von Prof. Stefan Biesterfeld, heute von Dr. med. Martin Schramm) gesendet wurden. Diese wurden in einem Primärscreening von Laborassistenten beurteilt und bei Befundung pathologischer Veränderungen der Gruppe IID und höher (nach MN II, heute IID1/IID2 nach MN III) von einem Fach- und/oder Oberarzt der Cytopathologie in einer weiteren Befundung endgültig diagnostiziert. In Fällen, in denen adjuvante Diagnostikmethoden in Form von DNA-Bildzytometrie und/oder CINtec Plus vorgenommen worden waren, wurden die Ergebnisse übernommen. In Fällen, in denen keine zusätzliche Diagnostik veranlasst wurde, wurde nachträglich, sofern möglich, anhand archivierter Objektträger eine DNA-Bildzytometrie bei ausreichender Zellzahl durchgeführt. Bei unzureichender Zellzahl wurde, sofern möglich, als nachträgliche Krankenversorgungsleistung eine Färbung mit CINtec Plus durchgeführt. Die Befunderhebung stammt aus den Befundsystemen und Archiven des Instituts. Die Datengewinnung erfolgte damit retrospektiv.

2.2.1 DNA-bildzytometrische Untersuchung

Zunächst wurden zur Dokumentation des Originalzustandes die Objektträger, auf denen auffällige Zellbereiche mittels wasserfesten Stifts kreisförmig markiert waren, mithilfe eines Kopierers kopiert (Abb.4). Es folgte zusätzlich eine Fotodokumentation der pathologisch veränderten Zellen mithilfe einer mit Befundmikroskop (Zeiss) gekoppelten Bildanalyse-Software (Motic Image Plus 2.0 ML) bei 20- und 40-facher Vergrößerung. Anschließend konnten nach Sichtung der Dokumentation durch einen Facharzt der Cytopathologie die Präparate zur Färbung gegeben werden. Vorbereitend mussten diese zur Ablösung des Deckglases in Xylol eingestellt werden. Eine Entfärbung ist nicht nötig, da die Papanicolaou-Färbung im Verlauf der Feulgen-Färbung in Lösung geht.

Feulgen-Färbung

Nachdem das Deckglas abgelöst war, wurde die Feulgen-Färbung in einem speziellen Objektträger-Färbegerät (Shandon Varistin) nach entsprechendem Protokoll durchgeführt (Tabelle 7). Dabei handelt es sich um eine rot-violette Färbung der DNA, die

präzise unter standardisierten Bedingungen durch saure Hydrolyse und anschließende Farbreaktion mit Schiffchem Reagenz (standardisiert nach Graumann 1953) zustande kommt [52].

Chemikalie	Einwirkzeit in min	Funktion
Xylol	15	Ablösen des Deckglases
Ethanol 99,5%, 96%	jeweils 5	Entfernung von Rückständen
Gepufftes Formalin 10%	50	Fixation
Aqua dest.	10	Spülung
Aqua dest.	5	Spülung
5gN HCl	60	Hydrolyse
Aqua dest., 3 Küvetten	jeweils 2	Ende der Hydrolyse
Schiffches Reagenz	60	Färbung
Sulfitwasser, 3 Küvetten	jeweils 5	Auswaschen überschüssigen Farbstoffs
Aqua dest., 2 Küvetten	jeweils 1	Spülung
Ethanol 70%, 96%, 99,5%	jeweils 10	Entwässerung
Xylol	15	Intermedium

Tabelle 7: **Ablauf der Feulgen-Färbung im Färbeautomaten** [53]

Im ersten Reaktionsschritt erfolgt durch die saure Hydrolyse die Spaltung der Glykosidbindung der Purinbasen der DNA, sodass an der C1-Stelle freie Aldehydgruppen entstehen. Im zweiten Reaktionsschritt können diese dann mit der aromatischen Aminogruppe des Schiffchen Reagenz reagieren und in lichtmikroskopisch nachweisbaren Farbstoff umgesetzt werden. Eine Spaltung der Glykosidbindungen in RNA ist nicht möglich, weshalb diese, ebenso wie Histone und andere Proteine, ungefärbt bleiben. Die Feulgen-Färbung führt somit zu einer stöchiometrischen Darstellung der DNA. Nach erfolgter Färbung wurden die Präparate mit einem konventionellen Eindeckmittel (Vitro Clud) unter einem Deckglas wieder eingedeckt und entsprechende Markierungen mithilfe der Kopie der Objektträger wieder übertragen (Abb.4). Bis zur Messung verblieben die Präparate in lichtdichten Objektmappen.

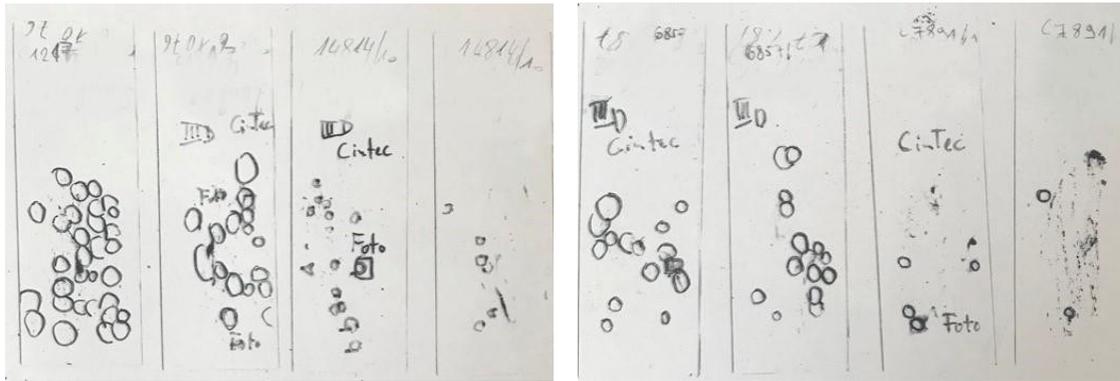


Abb. 4: **Kopien der Objektträger mit Markierung auffälliger Zellareale**, aus eigenem Befundbestand

DNA-bildzytometrische Messung

Die DNA-bildzytometrischen Messungen erfolgten mittels Computer gestütztem Bildanalyse-Programm (Autocyte-Messsystem, Roche), das über eine Schwarz-Weiß-Kamera mit einem Axioplan-Mikroskop (Zeiss) gekoppelt ist. Zunächst musste für das jeweilige Präparat das Mikroskop nach dem Köhlerschen Beleuchtungsprinzip justiert und die Kamera kalibriert werden. Dabei wurde ein zellreiches Areal fokussiert und passend beleuchtet. Durch Verschließen der Blende wurde eine Schwarzbildaufnahme aufgenommen und so „schwarz“ für das Analyseprogramm definiert. Im Anschluss folgte ein Weißabgleich in einem zellfreien Präparatausschnitt und so „weiß“ definiert.

Für die Messung wurden die markierten Bereiche des Präparats in 40-facher Vergrößerung fokussiert und die mikroskopischen Bilder auf den Computer übertragen. Als Referenzzellen wurden ca. 30 diploide Zellkerne von morphologisch unauffälligen Fibroblasten per Mausclick markiert, um so die integrierte optische Dichte (IOD) der Zellkerne zu erfassen. Der daraus berechnete Mittelwert der IOD pro Zellkern ergab den DNA-Gehalt, der als normaler DNA-Gehalt von 2c als Referenz festgelegt wurde. Der Variationskoeffizient der IOD (CV) durfte pro Messvorgang maximal 5% betragen. Der Korrelationskoeffizient (CC) beschreibt das Verhältnis zwischen IOD und Zellkernfläche und lag zwischen $\pm 0,4$. Als Analysezellen wurden den Referenzzellen ebenfalls per Mausclick ca. 300 auffällige Epithelzellen gegenübergestellt und so der DNA-Gehalt in den Zellkernen gemessen. Jeder Analysezone wurde ein Messwert in c basierend auf den oben beschriebenen diploiden Standard 2c zugeordnet. Alle definierten Zellen wurden in einer Maske gespeichert und durch die Institutsleiterin überprüft und gegebenenfalls korrigiert. So konnten Verfälschungen der Messergebnisse, durch z.B. lytische Zellkerne oder Überlagerungen, vermieden werden. Die Messmethode der DNA-Bildzytometrie ist international standardisiert und unterlag zur Qualitätssicherung

den Anforderungen der ESACP-Konsensuskonferenz [54]. Als zugelassene Variablen waren u.a. die Lage der DNA-Stammlinien in Form von Peaks im DNA-Histogramm, sowie die Einzelzell-Aneuploidie mit einem DNA-Gehalt größer als 5c bzw. 9c vorgegeben. Stammlinien im Bereich 4c galten als morphologisch unauffällig, da es sich um DNA-Messungen von Zellen mit tetraploidem Chromosomensatz während der Zellteilung handelte. Entsprechende Befunde wurden als dreiseitiges Messprotokoll dokumentiert (Abb.5, siehe unten Seite 23-25).

2.2.2 CINtec Plus-immunzytochemische Untersuchung

Die immunzytochemische Methode CINtec Plus (Roche) basiert auf einer simultanen Doppelfärbung, die eine Ko-Expression von p16-Proteinen im Zellplasma und Ki-67-Proteinen im Zellkern auffälliger Zellen markiert und qualitativ bestimmt. Die Grundlage der Immunzytochemie ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion. Das benötigte CINtec Plus-Kit enthält neben einer wässrigen Eindecklösung und einer Meerrettich-Peroxidase entsprechende monoklonale Antikörper, die für den Nachweis der Antigene mittels Zweischrittfärbeverfahren benötigt werden. Hierbei handelt es sich um den Maus-Antikörper Klon E6H4™, der speziell gegen p16-Proteine gerichtet ist, und um den Kaninchen-Antikörper Klon 274-11 AC3, der sich gegen das Ki-67-Protein richtet. Die Untersuchung erfolgte im Rahmen der Krankenversorgung nach der Gebrauchsanweisung für CINtec Plus der Firma Roche mtm laboratories.

Probenvorbereitung

Die konventionellen Abstrichpräparate nach Pap-Färbung müssen vor dem Färbeprotokoll vom Deckglas befreit werden. Dazu werden sie über Nacht in frisches Xylol und anschließend erneut für weitere 15 min in frisches Xylol gestellt, um Rückstände des Eindeckmediums vollständig zu entfernen. Anschließende Inkubationen erfolgen in 99%igem, 96%igem, 70%igem und 50%igem Ethanol für jeweils 5min. Abschließend werden die Präparate für 5-20 min in destilliertes Wasser gestellt.

Antigendemaskierung

Die durch die Formalinfixierung bedingten Veränderungen der Antigene sorgen für eine Quervernetzung (sog. Maskierung) untereinander, sodass dies zum Verlust der Immunreaktivität führt. Das Anbinden der Antikörper ist dadurch nur bedingt möglich. Durch eine Antigendemaskierung unter Anwendung eines Wasserbads lässt sich die tertiäre Proteinstruktur wiederherstellen, sodass die Antigene wieder zugänglich und von

Antikörpern erkannt werden [55]. Dazu wurde eine Demaskierungslösung (Epitope Retrieval Solution) mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 angemischt und in Küvetten gefüllt. Diese wurden in ein Wasserbad gegeben und auf 95-99°C erwärmt, wobei die Temperatur prinzipiell innerhalb der Küvetten erreicht werden muss. Die Präparate wurden in die Küvetten mit vorgewärmter Demaskierungslösung eingetaucht und die Temperatur wieder auf 95-99°C gebracht und für 10 min darin belassen. Anschließend wurden die Küvetten aus dem Wasserbad genommen und geöffnet und bei Raumtemperatur für 20 min abgekühlt. Die Objektträger wurden dann in eine mit Waschpuffer gefüllte Färbeküvette umgebettet. Die Inkubationszeit lag bei 5 min.

Manuelles Färbeprotokoll

Die Reaktionsprodukte können jetzt mithilfe eines Färbeverfahrens durch ein gebrauchsfertiges Reagenz aus Meerrettich-Peroxidase und Ziege-Anti-Maus- und Ziege-Anti-Kaninchen-Antikörperfragmenten visualisiert werden (Tabelle 8).

Medium	Inkubationszeit in min
Waschpuffer	5
Peroxidase-Blockierungsreagenz 200µl	5
Waschpuffer	5
Primär-AK-Lösung p16/Ki-67 200µl	30
Waschpuffer	5
Visualisierungsreagenz HRP 200µl	15
Waschpuffer	5
Visualisierungsreagenz AP 200µl	15
Waschpuffer, 3 Küvetten	jeweils 5
DAB gebrauchsfertige Substrat-Chromogen-Lösung (1 ml Puffer + 1 Tropfen Chromogen)	10
Aqua dest.	5
Waschpuffer	5
frisch angesetztes Fast Red (gebrauchsfertige Substrat-Chromogen-Lösung) 200µl	15
Aqua dest.	

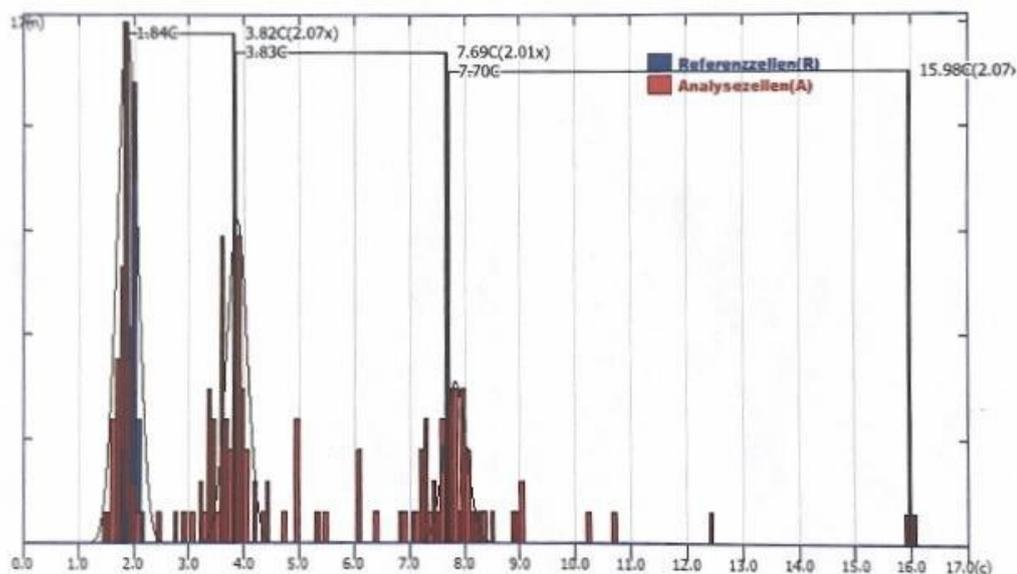
Tabelle 8: Inkubationsprotokoll des Färbeverfahrens bei CINtec Plus

DNA-Bildzytometrie

Patienten ID:	197-11	Material ID:	197-11
Vorname:	Friederike	Organ:	Gebärmutterhals
Nachname:		Material:	Abstrich
Geburtsdatum:		Datum der Probe:	25/01/2016
Geschlecht:	Weiblich	Färbung:	Feulgen

Klinische Angaben:

DNA-Histogramm [c] 16197-11



DNA-Ploidie: DNA Aneuploidie
 DNA-Klasse: Stammlinien-Aneuploidie und Einzelzell-Aneuploidie
 Empfehlung:

Unterschrift Arzt/Ärztin: El Massasi _____ 25/01/2016

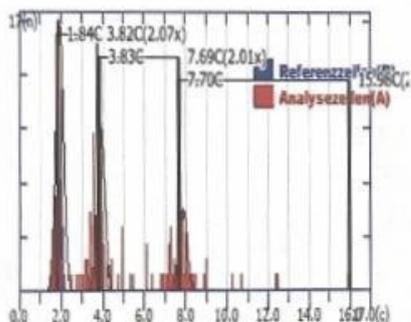
Unterschrift ZTA/MTA: _____ 25/01/2016

Abb. 5: a) Seite 1 des dreiseitigen Messprotokolls einer diagnostischen DNA-bildzytometrischen Messung, anonymisiert, aus eigenem Befundbestand

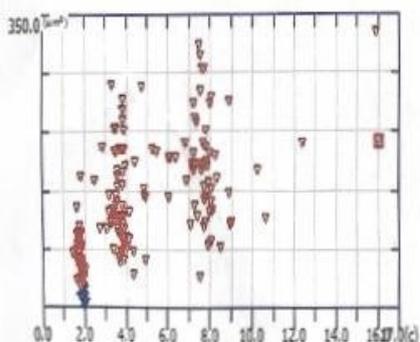
DNA-Bildzytometrie

Patienten ID: 197-11	Material ID: 197-11
Vorname: Friederike	Organ: Gebärmutterhals
Nachname:	Material: Abstrich
Geburtsdatum:	Datum der Probe: 25/01/2016
Geschlecht: Weiblich	Färbung: Feulgen

DNA-Histogramm [c]
16197-11



DNA-Scatterplot [c]
16197-11



Statistik

Referenzzellen

n	31	CV	3.76
CC	-0.26		
2c Referenz-IOD	321.53		

Analysezellen

n	177	Aneuploid.E(d)	131
Min.[c]	1.44	Aneuploid.E(t)	73
Max.[c]	16.05	Modal-Wert [c]	1.82
2c Deviation Index	12.61	Mittlere Ploidie	4.29

Stammlinie	Peak A	Peak B	Peak C
Modalwert	1.84c	3.83c	7.79c

Absolute Indizes

2.5c Ex. Events	129
3c Ex. Events	127
4c Ex. Events	73
5c Ex. Events	60
7c Ex. Events	52
9c Ex. Events	7

Relative Indizes

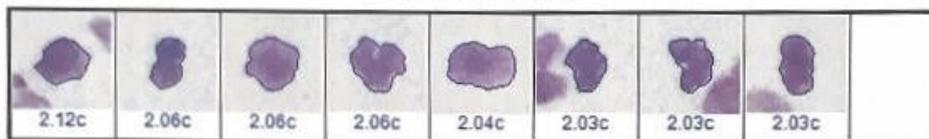
2.5c Ex. Rate	72.88
3c Ex. Rate	71.75
4c Ex. Rate	41.24
5c Ex. Rate	33.90
7c Ex. Rate	29.38
9c Ex. Rate	3.95

Abb. 5: b) Seite 2 des dreiseitigen Messprotokolls einer diagnostischen DNA-bildzytometrischen Messung, anonymisiert, aus eigenem Befundbestand

DNA-Bildzytometrie

Patienten ID:	197-11	Material ID:	197-11
Vorname:	Friederike	Organ:	Gebärmutterhals
Nachname:		Material:	Abstrich
Geburtsdatum:		Datum der Probe:	25/01/2016
Geschlecht:	Weiblich	Färbung:	Feulgen

Referenzzellen



Analysezellen

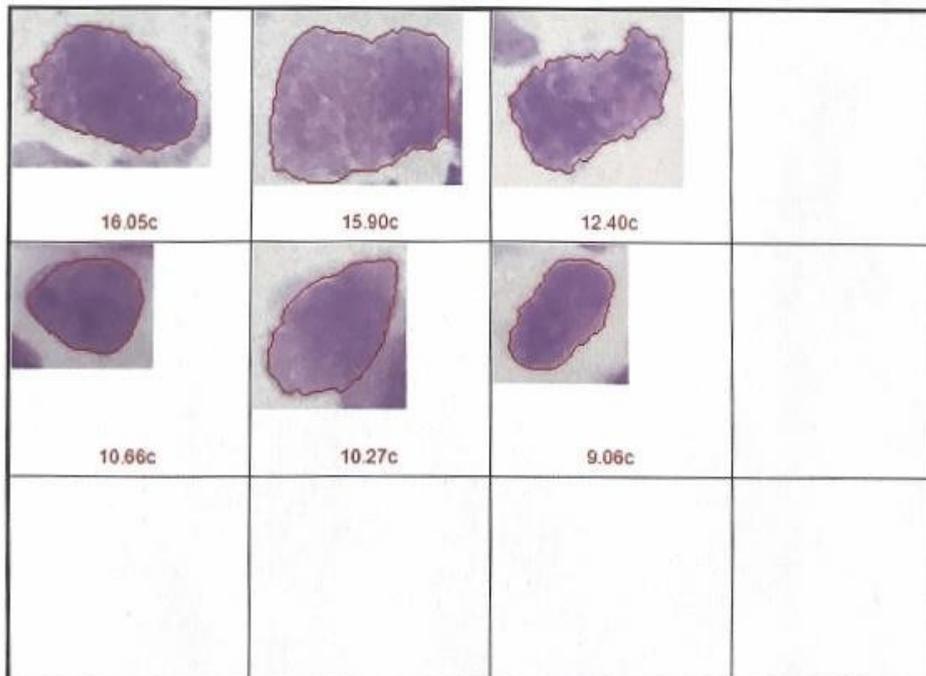


Abb. 5: c) Seite 3 des dreiseitigen Messprotokolls einer diagnostischen DNA-bildzytometrischen Messung, anonymisiert, aus eigenem Befundbestand

Gegenfärbung mit Hämatoxylin

Die Objektträger wurden für ca. 30-60 s in Mayer's Hämalaun, verdünnt mit destilliertem Wasser 1:1, gegengefärbt, anschließend mit Wasser abgespült und 5 min gewässert. Um das Zellmaterial lichtmikroskopisch zu untersuchen, wurden die Objektträger abschließend zunächst mit einer wässrigen Eindecklösung, CINtec Plus Mount blasenfrei, eingedeckt und nach vollständiger Trocknung für maximal 20 min in Xylol eingestellt und mit einem Deckglas eingedeckelt. Der Färbeprozess wurde von entsprechendem Fachpersonal des Instituts durchgeführt und in lichtdichten Objektträgermappen zur Auswertung übergeben.

Die Analyse des Zellmaterials erfolgte mithilfe eines Computer gekoppelten Lichtmikroskops (Zeiss) bei 20- und 40-facher Vergrößerung, sodass über eine Software (Motic Images plus 2.0) die auffälligen Präparatabschnitte auf den Computer übertragen und als Bild dokumentiert werden konnten. Bei einer Überexpression von p16 färbt sich das Zellplasma betroffener Zellen braun. Ein positiver Nachweis der Ko-Existenz von Ki-67 führt zu einer Rotfärbung des Zellkerns (Abb.6). Eine einzelne dualgefärbte Zelle im Präparat reicht aus, um das Ergebnis als positiv zu werten. Eine Kontrolle erfolgte sowohl direkt über das Fachpersonal des Funktionsbereichs Cytopathologie als auch abschließend vom leitenden Arzt der Abteilung.

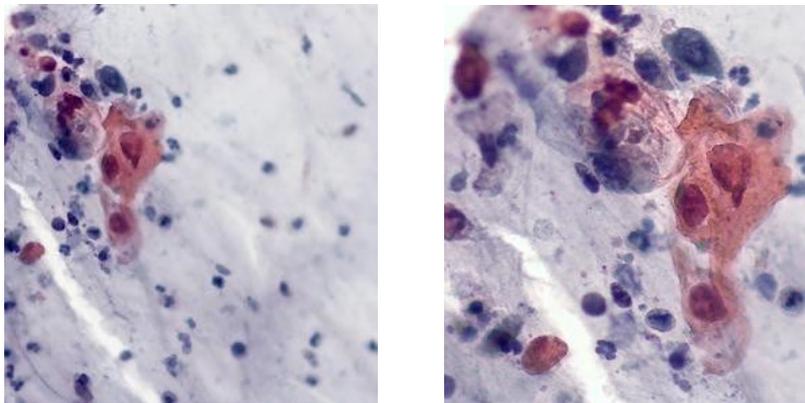


Abb. 6: **Mikroskopische Bilddokumentation bei CINtec positivem Befund**, dual gefärbte Epithelzelle bei 20-facher (links) und 40-facher Vergrößerung (rechts), aus eigenem Befundbestand

2.3. Datenerfassung und -auswertung

Die Datenerfassung erfolgte sowohl in Papierform als auch in Form elektronischer Akten, die zur Dokumentation in digitale Informationssysteme des UKD eingespeist wurden. Hier handelte es sich um das Krankenhausinformationssystem „medico“ (Siemens) und um das Pathologie-Management-System „dc-Pathos“ (dc-Systeme Informatik GmbH).

Am Funktionsbereich Cytopathologie wird manuell eine Kartei aller auffälligen Zervixbefunde geführt, die u.a. aus der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik des UKD, aber auch von zuweisenden niedergelassenen KollegInnen stammen. So konnten erkrankte Patientinnen mit entsprechender Diagnose im Zeitraum von 2009 bis 2015 schnell identifiziert werden. Die Frage nach einer vorliegenden Schwangerschaft war nicht zwangsweise dokumentiert, sodass mittels entsprechender Recherche in den oben genannten Datenprogrammen Schwangere gefiltert werden konnten. Viele Patientinnen wurden nach Konsiliaruntersuchung und auffälliger Befundung nicht weiter vorstellig, was das Eruiere klinischer Verläufe unter Einhaltung des Datenschutzes fast unmöglich machte. Zwar gibt es seitens der Kassenärztlichen Vereinigung Vereinbarungen zur Qualitätssicherung, die u.a. das Anfragen von Folgebefunden beim Einsendenden vorschreiben, sodass „die Qualität zytologischer Untersuchungen zur Früherkennung des Zervixkarzinoms gesichert werden soll“ [56], unterscheidet jedoch nicht zwischen schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen. Aufgrund der Tatsache beschränkten wir uns in dieser ohnehin aufwendigen Studie auf die schwangeren Patientinnen, die sich hausintern prä- und teils postpartal von GynäkologInnen des UKD im Rahmen der Dysplasiesprechstunde begleiten ließen. Die gewonnenen Daten und individuellen Verlaufsbeurteilungen wurden unter Pseudonymisierung tabellarisch in Microsoft Excel zusammengetragen und ausgewertet. Dabei wurden u.a. Alter, Gestationsalter und Pap-Befund bei Erstvorstellung, sowie Folgebefunde und anschließende adjuvante Methoden wie DNA-Bildzytometrie und/oder CINtec Plus aufgenommen. Teilweise konnten auch Fälle mit histologischen Befunden ergänzt werden, sofern diese mittels Probeexzision und/oder Konisation (meist als LEEP) gewonnen wurden.

2.4. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem am Funktionsbereich Cytopathologie vorgehaltenen Programmpaket BMDP des *Department of Biomathematics* der *University of California, Statistical Software Inc.*, Los Angeles, USA [57]. An biometrischen Basiswerten wurden der Median, der Mittelwert, die Varianz und die Standardabweichung stetig erhobener Größen erhoben. Die Korrelationen zwischen kategorisierten Parametern wurden in Mehr-Felder-Tafeln dargestellt und mit dem Pearson Chi-Quadrat-Tests statistisch ausgewertet. Statistische Signifikanz wurde dabei für ein α -Niveau von $\leq 0,05$ akzeptiert, was einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 5\%$ entspricht.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeine Übersicht zum Patientinnenkollektiv

Von den 119 Patientinnen standen verschieden viele zytologische Eingangsmaterialien zur Verfügung, sodass die Datensätze sich von Patientin zu Patientin unterschieden.

Es lagen vor:

- ein zytologischer Erstbefund in der Schwangerschaft von allen 119 Patientinnen,
- ein oder mehrere zytologische Folgebefunde in der Schwangerschaft von 90 Patientinnen,
- ein oder mehrere zytologische Folgebefunde in einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 68 Patientinnen,
- ein histologischer Befund in einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 80 Patientinnen.

Dabei waren praktisch alle Konstellationen ergänzend zum zytologischen Erstbefund vertreten, also beispielsweise Patientinnen mit ausschließlich postpartaler Histologie oder Patientinnen mit zytologischen Folgebefunden in der Schwangerschaft und Histologie, aber auch solche mit ausschließlich zytologischem Erstbefund. Befunde in allen vier genannten Kategorien wiesen 52 Patientinnen (43,7%) auf.

Als abgeleitete Größen wurde auf den höchsten zytologischen Befund in der Schwangerschaft und den höchsten zytologischen Befund im Verlauf Bezug genommen - diese Größen waren definitionsgemäß für alle 119 Patientinnen vorhanden, da im Zweifelsfall der Erstbefund in der Schwangerschaft hierfür verwendet werden konnte.

Bei 75 der 119 Patientinnen (63,0%) lag im Ausgangsbefund ein Pap IIID vor, bei 36 eine Gruppe Pap IVa (30,3%). In 8 Fällen (6,7%) war der Kontrollbefund in der Dysplasiesprechstunde geringer als Pap IIID eingeordnet worden. In 80 Fällen (67,2%) konnte im Nachgang eine histologische Abklärung gesichert werden.

Die Sonderuntersuchungen mit DNA-Bildzytometrie und/oder CINtec Plus-Immunzytochemie waren nicht an allen Präparaten in der primären Diagnostik vorgenommen worden bzw. konnten aus technischen Gründen nicht bei allen übrigen Präparaten nachträglich veranlasst werden. Fasst man die Ergebnisse der primären Diagnostik und der nachträglich durchgeführten Untersuchungen zusammen, so lagen vor

- ein DNA-bildzytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 70 Patientinnen,
- ein DNA-bildzytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat aus einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 14 Patientinnen,
- ein DNA-zytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 80 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 52 Patientinnen,
- ein CINtec Plus- Befund zu einem zytologischen Präparat aus einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 8 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 57 Patientinnen.

Insgesamt lagen somit Ergebnisse der DNA-Bildzytometrie bei 80 Patientinnen (67,2%) und für CINtec Plus bei 57 Patientinnen (47,9%) vor. Wenigstens eine der beiden Methoden konnte bei 108 Patientinnen (90,8%) angewandt werden.

In Tabelle 9 sind die Daten aller 119 Fälle, kategorisiert nach der Pap-Gruppe der zytologischen Erstdiagnosen in der Schwangerschaft, zusammengestellt.

Pap-Gruppe	Zytologische Erstdiagnose	DNA-Zytometrie			CINtec plus			DNA-Zytometrie oder CINtec plus			Histologie
		eu	an	ges	neg	pos	ges	neg	pos	ges	
neg	6	1	1	2	3	0	3	4	1	5	4
III	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2	1
IIID	75	13	31	44	14*	26	40	22	47	69	47
IVa	36	1	31	32	4	10	14	1	31	32	28
V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
gesamt	119	80			57			108			80

Tabelle 9: **Korrelation der zytologischen Erstdiagnose mit Ergebnissen der DNA-Bildzytometrie, der CINtec Plus-Immunzytochemie sowie der postpartalen Histologie,** eu = euploid bzw. nicht DNA-aneuploid, an = DNA-aneuploid, neg = negativ, pos = positiv, ges = gesamt, *inkl. einem Fall, der als grenzwertig eingestuft wurde

Aus dieser klinisch und methodisch bedingten Heterogenität leiteten sich für die Auswertung sehr viele tabellarische Darstellungen von Subgruppen ab, die hier nicht vollständig präsentiert und interpretiert werden können. Stattdessen muss es im Folgenden darum gehen, das Wesentliche herauszuarbeiten. Der Übersicht halber gestaltet sich die Ergebnisdarstellung so, dass die Befunde der angewandten Methode jeweils in Korrelation mit der zytologischen Erstdiagnose während der Schwangerschaft, der zytologischen Verlaufskontrolle prä- und postpartum sowie der Histologie betrachtet und beschrieben wird.

3.2 Allgemeine Übersicht zum Patientinnenkollektiv mit postpartaler Histologie

In Tabelle 10 ist die Entwicklung der zytologischen Diagnostik von der Erstdiagnose in der Schwangerschaft bis hin zum Ergebnis der histologischen Untersuchung über die Zeit für die 75 initial als IIID oder IVa eingestuften Fälle wiedergegeben.

Zytologische Erstdiagnose	Zytolog. Kontrolle Schwangerschaft	postpartale Zytologie	Histologie		
			absolut	relativ	
Pap IIID (47)	Pap IVa (10)	Pap IVa (5)	CIN 3	10	100%
		Pap IIID (2)			
		Pap I/II (0)			
		kein Befund (3)			
	Pap IIID (22)	Pap IVa (5)	CIN 3	12	54,5%
		Pap IIID (8)	CIN 1/2	4	18,2%
		Pap I/II (4)	negativ	6	27,3%
		kein Befund (5)			
	Pap I/II (4)	Pap IVa (0)	CIN 3	1	25,0%
		Pap IIID (0)	CIN 1/2	3	75,0%
		Pap I/II (1)			
		kein Befund (3)			
	kein Befund (11)	Pap IVa (5)	CIN 3	6	54,5%
		Pap IIID (2)	CIN 1/2	3	27,3%
		Pap I/II (2)	negativ	2	18,2%
		kein Befund (2)			

Tabelle 10 (Anfang): Diagnostische Entwicklung und histologisches *Follow up* der 75 Fälle mit Erstdiagnose Pap IIID (47/119) bzw. Pap IVa (28/119)

Pap IVa (28)	Pap V (1)	Pap V (1)	CIS	1	100%
	Pap IVa (14)	Pap IVa (11)	CIN 3	13	92,9%
		Pap III (2)			
		Pap I/II (0)	negativ	1	7,1%
		kein Befund (1)			
	Pap IIID (7)	Pap IVa (5)	CIN 3	7	100%
		Pap IIID (0)			
		Pap I/II (2)			
		kein Befund (0)			
	Pap I/II (2)	Pap IVa (0)	CIN 3	2	100%
		Pap IIID (1)			
		Pap I/II (1)			
		kein Befund (0)			
	kein Befund (4)	Pap IVa (2)	CIN 3	4	100%
		Pap IIID (0)			
		Pap I/II (0)			
		kein Befund (2)			

Tabelle 10 (Fortsetzung/Ende): **Diagnostische Entwicklung und histologisches Follow up der 75 Fälle mit Erstdiagnose Pap IIID (47/119) bzw. Pap IVa (28/119)**

Die fünf Fälle, die initial Pap I bzw. Pap III eingeordnet worden waren, sind in der tabellarischen Darstellung nicht erfasst, werden aber unten weiter in der Ergebnisdarstellung berücksichtigt.

Korrelation zwischen zytologischer Erstdiagnose in der Schwangerschaft und Histologie

Die zytologische Erstdiagnose bezieht sich definitionsgemäß auf den ersten in der Frauenklinik am UKD während der Schwangerschaft vorgenommenen Abstrich, unabhängig von den Abstrichergebnissen, deretwegen die Patientinnen in die dortige Sprechstunde überwiesen worden waren. In Tabelle 11 ist die Korrelation mit der Histologie wiedergegeben. Sie zeigt, dass die meisten Diagnosen eines Pap IVa später einer CIN 3 zugeordnet wurden (26/28, 92,9%). Auch die Fälle eines Pap IIID entsprachen später häufig einer CIN 3 (29/47, 61,7%). Auffällig war ferner, dass viel mehr negative Fälle nach initialem Pap IIID auftraten (8/47, 17,0%) als nach Pap IVa (1/28, 3,6%).

Zytologische Erstdiagnose	Histologische Diagnose				gesamt
	Negativ	CIN 1-2	CIN 3	Karzinom	
I / II	1	1	2	0	4
III	0	0	1	0	1
III D	8	10	29	0	47
IVa	1	0	26	1	28
V	0	0	0	0	0
gesamt	10	11	58	1	80

Tabelle 11: Korrelation der zytologischen Erstdiagnosen während der Schwangerschaft und der histologischen Diagnosen im 6-monatigen postpartalen Intervall, $p > 0,05$

Korrelation zwischen zytologischer Verlaufsdiaagnose in der Schwangerschaft und Histologie

Eine oder mehrere zytologische Diagnosen im Verlauf der Schwangerschaft lagen für 65 der 80 Patientinnen (81,25%) vor. Tabelle 12 gibt die Korrelation mit der Histologie wieder, wobei bei Patientinnen mit mehreren Kontrollabstrichen der zytologisch höhere Befund berücksichtigt wurde. Im Vergleich zu Tabelle 11 zeigen sich keine wesentlich anderen Trends in der Datenverteilung. Erneut entsprachen die meisten Diagnosen eines Pap IVa später einer CIN 3 (23/25, 92,0%). Ebenso bestätigten sich die hohen Anteile einer Zuordnung von Fällen eines Pap IIID zu einer CIN 3 (22/33, 66,7%) und der höhere Anteil später histologisch negativer Fälle im Vergleich zwischen Pap IIID (7/33, 21,2%) und Pap IVa (1/25, 4,0%).

Zytologische Verlaufsdiaagnose in der Schwangerschaft	Histologische Diagnose				gesamt
	negativ	CIN 1-2	CIN 3	Karzinom	
I / II	0	3	3	0	6
III D	7	4	22	0	33
IVa	1	1	23	0	25
V	0	0	0	1	1
gesamt	8	8	48	1	65

Tabelle 12: Korrelation der zytologischen Verlaufsdiaagnosen während der Schwangerschaft und der histologischen Diagnosen im 6-monatigen postpartalen Intervall, $p < 0,0001$

Korrelation zwischen postpartaler zytologischer Diagnose und Histologie

Postpartale zytologische Kontrollen waren für 62 der 80 Patientinnen (77,5%) verfügbar. Die Tabelle 13 zeigt die Korrelation mit der Histologie, wobei erneut für den Fall mehrerer Kontrollabstrichen der zytologisch höhere Befund eingesetzt wurde.

Im Vergleich zu den beiden vorherigen Tabellen sind die Ergebnisse erwartungsgemäß teilweise ebenfalls ähnlich. Diagnosen eines Pap IVa mündeten in einer CIN 3 (29/33, 87,9%), die auch bei vielen Fällen eines Pap IIID vorlag (11/15, 73,3%).

Auffällig war die deutlich höhere Zahl negativer Abstriche (12/62, 19,4%) im Vergleich zu den Erstabstrichen (4/80, 5,0%) und den Kontrollabstrichen in der Schwangerschaft (6/65, 9,2%). Ein höherer Anteil später histologisch negativer Fälle bestand im Vergleich zwischen Pap IIID (1/15, 6,7%) Pap IVa (2/33, 6,1%) jetzt nicht mehr.

Postpartale zytologische Diagnose	Histologische Diagnose				gesamt
	Negativ	CIN 1-2	CIN 3	Karzinom	
I / II	4	2	6	0	12
III D	1	3	11	0	15
IVa / IVb	2	2	29 / 1	0	34
V	0	0	0	1	1
gesamt	7	7	47	1	62

Tabelle 13: **Korrelation der postpartalen zytologischen Diagnosen und der histologischen Diagnosen im 6-monatigen postpartalen Intervall, $p < 0,0001$**

Korrelation zwischen zytologischen Diagnosen innerhalb der gesamten Schwangerschaft einschließlich des 6-Monats-Intervalls postpartum und Histologie

Betrachtet man die zytologische Verlaufskontrolle der 80 Patientinnen insgesamt bis einschließlich des 6-monatigen Kontrollintervalls nach der Schwangerschaft, so ergibt sich in Korrelation mit den histologischen Diagnosen folgende tabellarische Darstellung (Tabelle 14). Auch hier sei darauf hingewiesen, dass der zytologische Referenzwert bei mehreren Kontrollabstrichen innerhalb des untersuchten Zeitraums dem des zytologisch höchsten Befundes entspricht.

Ähnlich zu den vorangegangenen Korrelationen zeichnet sich im gesamten Verlauf ein gleichartiger Trend bezüglich der diagnostizierten Fälle mit Pap IVa ab, von denen ein

Großteil histologisch als CIN 3 gesichert wurde (43/48, 89,6%). Der Anteil der Pap IIID-Befunde, der in einer CIN 3 mündete, liegt in der Übersicht mit 46,7% knapp unter der Hälfte (14/30).

Auffällig ist, dass sich das Verhältnis von Pap IIID und Pap IVa bei Mitberücksichtigung der postpartalen zytologischen Kontrollen im Vergleich zu den präpartalen Korrelationen zugunsten von Pap IVa verschiebt. So lag beispielsweise bei Erstdiagnose in 47 Fällen ein Pap IIID vor, bei 28 Patientinnen ein Pap IVa, wohingegen sich das Verhältnis dann umkehrt (30/48). Der Anteil histologisch negativer Fälle trotz auffälliger Zytologie (Pap IIID 8/30, 26,7% bzw. Pap IVa 2/49, 4,1%) entspricht allerdings in etwa den Beobachtungen der vorangegangenen präpartalen Korrelationen.

Höchste zytologische Diagnose in der Schwangerschaft und 6 Mon. danach	Histologische Diagnose				gesamt
	Negativ	CIN 1-2	CIN 3	Karzinom	
I / II	0	0	0	0	0
III D	8	8	14	0	30
IVa / IVb	2	3	43 / 1	0	49
V	0	0	0	1	1
gesamt	10	11	58	1	80

Tabelle 14: Korrelation der prä- und postpartalen zytologischen Diagnosen und der histologischen Diagnosen im 6-monatigen postpartalen Intervall, $p < 0,0001$

3.3 DNA-Bildzytometrie als adjuvante Messmethode bei Patientinnen mit gesicherter Histologie

Bezogen auf die 80 Fälle, zu denen vor bzw. nach der Entbindung innerhalb von sechs Monaten auch eine Histologie gewonnen worden war, waren verfügbar

- ein DNA-bildzytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 46 Patientinnen,
- ein DNA-bildzytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat aus dem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 13 Patientinnen,

- ein DNA-zytometrischer Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 56 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 29 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat aus einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 7 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 34 Patientinnen.

Insgesamt standen also für die Untergruppe der 80 später histologisch abgeklärten Fälle DNA-bildzytometrische Untersuchungen bei 56 Patientinnen (70%) und CINtec Plus-Untersuchungen bei 34 Patientinnen (42,5%) zur Verfügung. Wenigstens eine der beiden Methoden war bei 70 Patientinnen (87,5%) angewandt worden. Alle drei prozentualen Werte unterscheiden sich nicht von den oben genannten für alle 119 Fälle (67,2%, 47,9% bzw. 90,8%).

DNA-bildzytometrische Messungen in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der zytologischen Erstdiagnose

Wie bereits oben definiert, bezieht sich die zytologische Erstdiagnose auf den ersten in der Frauenklinik des UKD vorgenommenen Abstrich während der Schwangerschaft. In der Tabelle 15 ist die Korrelation der Diagnosen mittels DNA-Bildzytometrie präpartal bzw. unter Einschluss des postpartalen 6-monatigen Kontrollintervalls wiedergegeben.

Zytologische Diagnose bei Erstvorstellung	DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft			DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	eu	an	ges	eu	an	ges
Negativ	1	0	1	1	0	1
III	0	1	1	0	1	1
IIID	8	17	25	9	21	30
IVa	1	18	19	1	23	24
V	0	0	0	0	0	0
gesamt	10	36	46	11	45	56

Tabelle 15: **Korrelation der zytologischen Erstdiagnosen und der DNA-bildzytometrischen Ergebnisse während der Schwangerschaft bzw. unter Berücksichtigung der postpartalen Messungen, $p < 0,05$**

Hier zeigt sich, dass die meisten Erstdiagnosen eines Pap IVa mittels DNA-Bildzytometrie auch als auffällig bestätigt und als aneuploid diagnostiziert wurden (18/19, 94,7% bzw. 23/24, 95,8% einschließlich postpartaler Kontrolle). Der Anteil der als aneuploid diagnostizierten Pap IIID lag innerhalb beider Untersuchungszeiträume bei knapp 70% (17/25 bzw. 21/30).

DNA-bildzytometrische Messungen in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der zytologischen Verlaufskontrolle in der Schwangerschaft

Betrachtet man die zytologische Verlaufskontrolle präpartal, so lagen 46 Fälle vor, die von einer DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft ergänzt wurden, und insgesamt 56 Fälle bei Mitberücksichtigung des postpartalen Kontrollintervalls.

Ähnlich der vorangegangenen Datenverteilung aus der Tabelle 15 zeigt die Korrelation der zytologischen und der DNA-bildzytometrischen Verlaufsdiaagnosen in Tabelle 16, dass die meisten Fälle eines Pap IVa während der Schwangerschaft (24/27, 88,9%) als auch danach (30/33, 90,9%) als aneuploid diagnostiziert wurden.

In der Gruppe der Pap IIID-Fälle sinkt der Anteil der als aneuploid diagnostizierten Fälle in beiden Untersuchungsintervallen auf knapp über 60% (11/18 bzw. 14/22), was im Umkehrschluss zeigt, dass knapp über ein Drittel der Fälle mit der Diagnose eines Pap IIID als euploid beurteilt wurde.

Zytologische Verlaufdiagnose in der Schwangerschaft	DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft			DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	eu	an	ges	eu	an	ges
Negativ	0	0	0	0	0	0
IIID	7	11	18	8	14	22
IVa	3	24	27	3	30	33
V	0	1	1	0	1	1
gesamt	10	36	46	11	45	56

Tabelle 16: **Korrelation der zytologischen Verlaufsdiaagnosen während der Schwangerschaft und der DNA-bildzytometrischen Diagnosen während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls.** Für die rechte Tabelle (n=56) ergab sich im Chi²-Test eine statistische Signifikanz (p < 0,05), für die linke Tabelle (n = 46) nicht (p > 0,05).

DNA-bildzytometrische Messungen in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit den postpartalen zytologischen Diagnosen

Betrachtet man die postpartalen zytologischen Verlaufskontrollen, so liegen hier in Korrelation mit präpartalen DNA-bildzytometrischen Diagnosen 35 Fälle vor und 44 Fälle, die zu einem beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungszeitraums gestellt wurden.

Entsprechend der vorangegangenen Tabellen 15 und 16 gilt auch hier, dass fast alle Fälle der Befundgruppe Pap IVa/b mit über 95% als aneuploid diagnostiziert wurden (19/20 bzw. 26/27).

Auffällig ist der hohe Anteil der zytologisch negativ bewerteten Befunde mit 62,5% (5/8), die trotzdem eine Aneuploidie aufwiesen, wohingegen die Fälle eines Pap IIID nur noch zu 50% als aneuploid diagnostiziert wurden (3/6 bzw. 4/8). Eine Übersicht der Daten zeigt Tabelle 17.

Postpartale zytologische Diagnose	DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft			DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	eu	an	ges	eu	an	ges
negativ	3	5	8	3	5	8
IIID	3	3	6	4	4	8
IVa/b	1/0	18/1	20	1/0	25/1	27
V	0	1	1	0	1	1
gesamt	7	28	35	8	36	44

Tabelle 17: **Korrelation der postpartalen Verlaufsdiagnosen und der DNA-bildzytometrischen Diagnosen während der Schwangerschaft bzw, einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls.** Für die rechte Tabelle (n = 44) ergab sich im Chi²-Test statistische Signifikanz ($p < 0,05$), für die linke Tabelle (n = 35) nicht ($p > 0,05$).

DNA-bildzytometrische Messungen in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit den zytologischen Diagnosen innerhalb der gesamten Schwangerschaft einschließlich des postpartalen Kontrollzeitraums

Betrachtet man die zytologischen Verlaufsdiagnosen zu einem beliebigen Zeitpunkt des Studienzeitraums und definiert auch hier den höchsten Befund als Referenzwert, so ergibt sich die folgende Tabelle 18 in Korrelation mit der Auswertung der DNA-Bildzytometrie prä- bzw. einschließlich postpartal.

Im Vergleich zur vorangegangenen Darstellung zeigten sich in der Übersicht der zytologischen Verlaufskontrolle über den gesamten Studienzeitraum keine wesentlich anderen Trends. So wurde in $\geq 90\%$ der Fälle mit einem Pap IVa/b DNA-Aneuploidie nachgewiesen (27/30 bzw. 36/39), während die Fälle einer Pap IIID zu einem wesentlich geringeren Anteil von maximal 53,3% als aneuploid diagnostiziert werden (8/15 bzw. 8/16).

Die relativ vielen Fälle (5/8, 62,5%) der negativen bzw. zytologisch unauffälligen Befunde \leq Pap III nach Entbindung (Tabelle 17), die sich mittels DNA-Bildzytometrie dennoch als aneuploid entpuppten, lassen sich in der zytologischen Gesamtverlaufskontrolle nicht bestätigen.

Höchste Zytologie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung	DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft			DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	eu	an	ges	eu	an	ges
negativ	0	0	0	0	0	0
IIID	7	8	15	8	8	16
IVa/b	3/0	26/1	30	3/0	35/1	39
V	0	1	1	0	1	1
gesamt	10	36	46	11	45	56

Tabelle 18: Korrelation der prä- und postpartalen zytologischen Diagnosen und der DNA-bildzytometrischen Diagnosen während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls, $p < 0,05$

DNA-bildzytometrische Messungen in der Schwangerschaft und der postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der Histologie

Eine präpartale DNA-Bildzytometrie war in 46 der histologisch gesicherten Fälle verfügbar, 10 weitere konnten im postpartalen Kontrollintervall dazugewonnen werden, sodass insgesamt in 56 der 80 histologisch gesicherten Fälle Messungen vorlagen.

Eine Korrelation der DNA-bildzytometrischen Ergebnisse mit denen der Histologie zeigt Tabelle 19.

Die meisten Diagnosen einer CIN 3 ($\geq 85,7\%$, 30/35 bzw. 37/42) konnten mittels DNA-Bildzytometrie im untersuchten Studienzeitraum als aneuploid bestätigt werden.

Allerdings ließ sich in mindestens 50% der histologisch unauffälligen Befunde (3/6 bzw. 5/9) sowie auch in der Gruppe der CIN 1/2 (2/4) auch eine Aneuploidie nachweisen.

Histologie	DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft			DNA-Bildzytometrie in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	eu	an	ges	eu	an	ges
Negativ	3	3	6	4	5	9
CIN 1/2	2	2	4	2	2	4
CIN 3	5	30	35	5	37	42
Ca	0	1	1	0	1	1
gesamt	10	36	46	11	45	56

Tabelle 19: Korrelation der histologischen Diagnosen und der DNA-Bildzytometrie während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls, $p < 0,05$

3.4 CINtec Plus Immunzytochemie als adjuvante Methode bei Patientinnen mit gesicherter Histologie

Wie bereits oben beschrieben, ergab sich innerhalb des Patientinnenpools der 80 histologisch gesicherten Fälle Folgendes:

- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 29 Patientinnen,
- ein CINtec Plus- Befund zu einem zytologischen Präparat aus einem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 7 Patientinnen,
- ein CINtec Plus-Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 34 Patientinnen.

Insgesamt liegen somit im Vergleich zur DNA-Bildzytometrie deutlich weniger Beobachtungen vor, so dass die Ergebnisse entsprechend zurückhaltender interpretiert werden müssen.

CINtec Plus-Bestimmung in der Schwangerschaft bzw. in der postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der zytologischen Erstdiagnose

Bei Betrachten der genannten Korrelationen (Tabelle 20) zeigt sich, dass innerhalb der Schwangerschaft knapp 75% der Pap IIID- (14/19) bzw. Pap IVa-Fälle (6/8) als auffällig befundet wurden. Weitet man den Untersuchungszeitraum um die postpartale Verlaufskontrolle aus, so steigt die Rate der auffällig bewerteten Pap IIID-Befunde auf 78,3% (18/23), während der Anteil der positiv gewerteten Pap IVa auf 66,7% sinkt (6/9) und somit ein Drittel der Gruppe der Pap IVa als negativ befundet wird (33,3% bzw. 3/9).

Zytologische Diagnose bei Erstvorstellung	CINtec Plus in der Schwangerschaft			CINtec Plus in der Schwangerschaft und bis 6 Monate nach Entbindung		
	neg	pos	ges	neg.	pos	ges
negativ	2	0	2	2	0	2
III	0	0	0	0	0	0
IIID	5	14	19	5	18	23
IVa	2	6	8	3	6	9
V	0	0	0	0	0	0
gesamt	9	20	29	10	24	34

Tabelle 20: Korrelation der zytologischen Erstdiagnosen und der immunzytochemischen Ergebnisse mittels CINtec Plus während der Schwangerschaft bzw. unter Berücksichtigung der postpartalen Bestimmungen, $p > 0,05$

CINtec Plus-Bestimmung in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der zytologischen Verlaufskontrolle in der Schwangerschaft

Eine immunzytochemische Diagnose lag wie oben im Verlauf der Schwangerschaft für 29 der 80 Patientinnen vor (36,3%). Bei Berücksichtigung des postpartalen Untersuchungszeitraums von 6 Monaten nach Entbindung steigt die Zahl auf 34 Fälle (42,5%). Auch hier wurde bei mehreren Kontrollabstrichen der jeweils zytologisch höchste Befund berücksichtigt.

In der Gruppe der Pap IIID zeigt die Korrelation zwischen den immunzytochemischen Bestimmungen und zytologischen Kontrollen bei Erstvorstellung (Tabelle 20) im Trend keine wesentlichen Unterschiede zur Datenverteilung während des gesamten Untersuchungsintervalls (Tabelle 21). Hier ist die Rate der CINtec positiven Befunde

insgesamt geringer mit 64,7% (11/17) und steigt bei Berücksichtigung des postpartalen Untersuchungszeitraums ähnlich gering auf 68,4% (13/19).

In der Gruppe der Pap IVa hingegen blieb im Vergleich zur Tabelle 20 der Anteil der positiv bewerteten CINtec Plus-Bestimmungen (75%, 9/12) bei Inkludieren der postpartalen Untersuchungen in etwa gleich (73,3%, 11/15).

Zytologische Verlaufskontrolle in der Schwangerschaft	CINtec Plus in der Schwangerschaft			CINtec Plus in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	neg	pos	ges	neg	pos	ges
negativ	0	0	0	0	0	0
IIID	6	11	17	6	13	19
IVa	3	9	12	4	11	15
V	0	0	0	0	0	0
gesamt	9	20	29	10	24	34

Tabelle 21: **Korrelation der zytochemischen Verlaufsdiagnosen während der Schwangerschaft und der immunzytochemischen Diagnosen mittels CINtec Plus während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls, $p > 0,05$**

CINtec Plus-Bestimmung in der Schwangerschaft und postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit den postpartalen zytologischen Diagnosen

Bezogen auf die zytologischen Abstriche der postpartalen Verlaufskontrolle, konnten diese in 24 Fällen mit präpartalen CINtec Plus-Bestimmungen korreliert werden bzw. in 29 Fällen mit Bestimmungen zu einem beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls bis zu 6 Monate postpartal.

Auffällig ist, dass 25% bzw. 40% der unauffälligen Pap-Abstriche bei anschließender immunzytologischer Untersuchung doch als auffällig gewertet wurden (1/4 bzw. 2/5), wobei natürlich die Zahl der Beobachtungen insgesamt gering war.

Die zytologischen Abstriche der Gruppe Pap IIID konnten in 60% (3/5) bzw. 66,7% (4/6) als auffällig detektiert werden, während die der Gruppe Pap IVa/b eine wesentlich höhere Quote mit um die 90% (14/15 bzw 16/18) zeigt. Eine Übersicht zur Zytologie der postpartalen Verlaufskontrolle und der CINtec Plus-Bestimmungen zeigt Tabelle 22.

Postpartale zytologische Diagnose	CINtec Plus in der Schwangerschaft			CINtec Plus in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	neg	pos	ges	neg	pos	ges
negativ	3	1	4	3	2	5
IIID	2	3	5	2	4	6
IVa/b	1/0	13/1	15	2/0	15/1	18
V	0	0	0	0	0	0
gesamt	6	18	24	7	22	29

Tabelle 22: **Korrelation der postpartalen Verlaufsdiaagnosen und der immunzytochemischen Diagnosen mittels CINtec Plus während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls.** Für die linke Tabelle (n = 24) ergab sich im Chi²-Test statistische Signifikanz (p < 0,05), für die rechte Tabelle (n = 29) nicht (p > 0,05).

CINtec Plus-Bestimmung in der Schwangerschaft und in der postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit den zytologischen Diagnosen innerhalb der gesamten Schwangerschaft einschließlich des postpartalen Kontrollzeitraums

In Tabelle 23 ist die Korrelation der zytologisch höchsten Abstrichbefunde zu einem beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls dargestellt, zu denen eine immunzytochemische Bestimmung während der Schwangerschaft bzw. zu einem beliebigen Zeitpunkt der Schwangerschaft einschließlich des postpartalen Kontrollfensters möglich war.

Ähnlich den vorangegangenen Darstellungen zeigt sich auch in dieser Korrelation, dass die meisten Fälle der Gruppe Pap IVa/b mit 84,2% während der Schwangerschaft bzw. mit 81,8% bei Berücksichtigung des postpartalen Kontrollfensters als CINtec positiv gewertet wurden.

Bezüglich der Gruppe der Pap IIID zeigt sich der Trend wie oben, dass wesentlich weniger auffällige Läsionen als CINtec positiv befundet wurden. In nur maximal 50% der Fälle konnte mittels CINtec Plus-Bestimmung diese als auffällig diagnostiziert werden (4/10, 40% bzw. 6/12, 50%). Zu beachten ist hier, dass im Umkehrschluss 60% der diagnostizierten Abstriche der Pap IIID als negativ bewertet wurden (6/10).

Höchste zytologische Diagnose in der Schwangerschaft und 6 Monate danach	CINtec Plus in der Schwangerschaft			CINtec Plus in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	neg	pos	ges	neg	pos	ges
negativ	0	0	0	0	0	0
IIID	6	4	10	6	6	12
IVa/b	3/0	15/1	19	4/0	17/1	22
V	0	0	0	0	0	0
gesamt	9	20	29	10	24	34

Tabelle 23: Korrelation der prä- und postpartalen zytologischen Diagnosen und der immunzytochemischen Diagnosen mittels CINtec Plus während der Schwangerschaft bzw. einschließlich des 6-monatigen postpartalen Intervalls. Für die linke Tabelle (n = 29) ergab sich im Chi²-Test statistische Signifikanz (p < 0,05), für die rechte Tabelle (n = 34) nicht (p > 0,05).

CINtec Plus-Bestimmung in der Schwangerschaft und der postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der Histologie

Eine immunzytochemische Untersuchung war in 29 der 80 histologisch gesicherten Fälle vor Entbindung verfügbar, in 34 Fällen lagen zu einem beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls immunzytochemische Diagnosen vor. Eine Korrelation dieser Ergebnisse mit denen der Histologie zeigt Tabelle 24.

Verglichen mit der bildzytometrischen Datenlage der Tabelle 19 konnten weniger Fälle mit der Diagnose einer CIN 3 als auffällig befundet werden (14/20, 70% bzw. 18/25, 72%). In der Gruppe der CIN 1/2 hingegen lag die Detektionsrate mit 80% deutlich höher.

Bezüglich der negativ bewerteten Biopsien kann aber ein ähnlicher Trend festgestellt werden. Hier konnte auch in 50% (2/4) der unauffälligen Fälle immunzytochemisch eine Transformation nachgewiesen werden kann.

Insgesamt lassen die Ergebnisse vermuten, dass CINtec Plus, das primär als Diagnostikum einer HPV-bedingten CIN-Läsion im Allgemeinen eingeführt worden war, keine hohe Trennschärfe innerhalb dieser Veränderung verfügt, also möglicherweise nicht zur Gradierung der Läsionen prädestiniert ist.

Histologie	CINtec Plus in der Schwangerschaft			CINtec Plus in der Schwangerschaft bzw. bis 6 Monate nach Entbindung		
	neg	pos	ges	neg	pos	ges
negativ	2	2	4	2	2	4
CIN 1/2	1	4	5	1	4	5
CIN 3	6	14	20	7	18	25
Ca	0	0	0	0	0	0
gesamt	9	20	29	10	24	34

Tabelle 24: **Korrelation der histologischen Diagnosen und der CINtec Plus-Bestimmung während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls, $p > 0,05$**

3.5 Kombinierte Betrachtung von DNA-Bildzytometrie und CINtec Plus bei Patientinnen mit gesicherter Histologie

Im vorliegenden Kapitel werden beide in den Kapiteln 3.3 und 3.4 einzeln dargestellten Untersuchungsmethoden der DNA-Bildzytometrie und der CINtec Plus-Immunzytochemie zusammengefasst und als „eine adjuvante Methode“ betrachtet. Die folgende Datenlage bezieht sich auf einen beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls von Erstvorstellung bis zu 6 Monaten nach Entbindung. Auch hier gilt bei mehreren Untersuchungsbefunden die Berücksichtigung des diagnostisch höchsten Befundes.

Insgesamt wurde in 70 der 80 histologisch gesicherten Fälle (87,5%) wenigstens eine der adjuvanten Methoden durchgeführt. Es lagen vor

- ein adjuvanter Befund zu einem zytologischen Präparat in der Schwangerschaft von 70 Patientinnen,
- ein adjuvanter Befund zu einem zytologischen Präparat aus dem 6-Monats-Intervall nach der Entbindung von 54 Patientinnen,
- ein adjuvanter Befund zu einem zytologischen Präparat zu einem beliebigen Zeitpunkt der Studie von 70 Patientinnen.

Korrelation der zytologischen Erstdiagnose während der Schwangerschaft und Diagnose der adjuvanten Methoden

In Tabelle 25 ist die Korrelation mit dem pathologisch höchsten Befund der adjuvanten Methoden während des gesamten Untersuchungsintervalls bis einschließlich 6-monatiger postpartaler Kontrolle wiedergegeben. Es zeigt sich, dass in den meisten Fällen der Gruppe Pap IVa auch mittels zusätzlicher Diagnostikmethode, ob DNA-bildzytometrisch oder immunzytochemisch, der auffällige Zytobefund positiv bestätigt werden konnte (23/24, 95,8%), während der Anteil positiver Befunde in der Gruppe Pap IIID geringer war mit 73,8% (31/42). Ein Einzelfall, der als Pap III diagnostiziert wurde, war bei zusätzlicher Befundung mittels adjuvanter Methoden positiv.

Zytologische Erstdiagnose	Adjuvante Methode (DNA / CIN)		
	negativ	positiv	ges
negativ	3	0	3
III	0	1	1
IIID	11	31	42
IVa	1	23	24
V	0	0	0
gesamt	15	55	70

Tabelle 25: **Korrelation der zytologischen Erstdiagnosen während der Schwangerschaft und der adjuvanten Diagnostik mittels DNA-Bildzytometrie (DNA) und/oder Cintec Plus-Immunzytochemie (CIN) zum beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls, $p < 0,05$**

Korrelation zwischen zytologischer Verlaufskontrolle in der Schwangerschaft und Diagnose der adjuvanten Methoden

Einen ähnlichen Trend wie in Tabelle 25 zeigt die Datenlage während der zytologischen präpartalen Verlaufskontrolle, dargestellt in Tabelle 26. In der Gruppe der Pap IVa konnte in 94,3% der Fälle (33/35) eine diagnostische Auffälligkeit mittels adjuvanter Methoden festgestellt werden, wohingegen in der Gruppe der Pap IIID der Anteil wesentlich geringer ausfiel mit 61,8% (21/34). Ein Einzelfall, der während der Schwangerschaft als Pap V diagnostiziert wurde, wurde auch nachträglich als auffällig bestätigt.

Zytologische Verlaufskontrolle während der Schwangerschaft	Adjuvante Methode (DNA / CIN)		
	negativ	positiv	ges
negativ	0	0	0
III	0	0	0
IIID	13	21	34
IVa	2	33	35
V	0	1	1
gesamt	15	55	70

Tabelle 26: Korrelation der zytologischen Verlaufskontrolle während der Schwangerschaft und der adjuvanten Diagnostik mittels DNA-Bildzytometrie (DNA) und/oder Cintec Plus-Immunzytochemie (CIN) zum beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls, $p < 0,05$

Korrelation der postpartalen zytologischen Diagnosen mit denen der adjuvanten Methoden

Im postpartalen Untersuchungszeitraum zeigten sich in der Gruppe der Fälle eines Pap IVa keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zum präpartalen Untersuchungszeitraum. Auch hier liegt die Detektionsrate mit 97,0% (32/33) sehr hoch (Tabelle 27). In der Gruppe der Pap IIID betrug der Anteil der Fälle, die mittels adjuvanter Methoden nachträglich als auffällig befundet werden konnten, 58,3% (7/12). Auffällig ist hingegen, dass mehr als die Hälfte der nach Entbindung zytologisch negativen Fälle mittels adjuvanter Methoden als positiv diagnostiziert wurden (55,6%, 5/9).

Zytologische Verlaufskontrolle postpartal	Adjuvante Methode (DNA/CIN)		
	negativ	positiv	ges
negativ	4	5	9
IIID	5	7	12
IVa/b	1/0	30/1	32
V	0	1	1
gesamt	10	44	54

Tabelle 27: Korrelation der postpartalen Verlaufskontrolle und der adjuvanten Diagnostik mittels DNA-Bildzytometrie (DNA) und/oder Cintec Plus-Immunzytochemie (CIN) zum beliebigen Zeitpunkt einschließlich des postpartalen Untersuchungsintervalls, $p < 0,05$

Korrelation zwischen zytologischen Diagnosen innerhalb der gesamten Schwangerschaft einschließlich des 6-Monatsintervalls postpartum und der Diagnostik mittels adjuvanter Methoden

Betrachtet man das gesamte prä- und postpartale Untersuchungsintervall, so ergibt sich zwischen der höchsten Zytologie und der Diagnosen der adjuvanten Methoden die in Tabelle 28 dargestellte Korrelation. Mit einem p-Wert < 0,0001 gilt diese im Pearson-Chi²-Test als hochsignifikant.

Auch hier zeigt sich, dass zytologische Befunde höher als Pap IIID in den meisten Fällen als auffällig bewertet wurden, nämlich in 43 von 45 Fällen (95,6%).

In der Gruppe der Pap IIID hingegen zeigt sich noch wesentlicher als in den vorangegangenen Korrelationen, dass die Detektionsrate bei größerem Untersuchungsintervall weiter sinkt auf 48% (12/25).

Höchste Zytologie während der Schwangerschaft bzw. 6 Monate danach	Adjuvante Methode (DNA / CIN)		
	Negativ	positiv	ges
negativ	0	0	0
IIID	13	12	25
IVa/b	2/0	41/1	44
V	0	1	1
gesamt	15	55	70

Tabelle 28: **Korrelation der prä- bzw. postpartalen zytologischen Diagnosen und der adjuvanten Diagnostik mittels DNA-Bildzytometrie (DNA) und/oder Cintec Plus-Immunzytochemie (CIN) zum beliebigen Zeitpunkt des Untersuchungsintervalls, p < 0,0001**

Adjuvante Methoden in der Schwangerschaft bzw. in der postpartalen Verlaufskontrolle in Korrelation mit der Histologie

Insgesamt standen 70 histologisch gesicherte Fälle zur Verfügung, deren zytologische Untersuchungen mit mindestens einer adjuvanten Methode ergänzt wurden (Tabelle 29).

Ähnlich der Datenlage der Korrelationen zwischen Histologie und DNA-Bildzytometrie (Tabelle 19) und der zwischen Histologie und CINtec Plus-Immunzytochemie (Tabelle 24) wurde auch hier die Hälfte (50%, 5/10) der histologisch unauffälligen Fälle mittels adjuvanter Methoden als positiv diagnostiziert.

In der Gruppe der CIN 1 und CIN 2 wurden 66,7% (6/9) als auffällig gewertet.

Die als CIN 3 bewerteten Läsionen konnten größtenteils als positiv diagnostiziert werden (86%, 43/50), was ebenfalls dem Trend der DNA-bildzytometrischen Datenlage aus Tabelle 19 gleicht. Das vorbefundete Karzinom war als solches auch nachfolgend positiv bestätigt worden.

Histologie	Adjuvante Methode (DNA / CIN)		
	negativ	positiv	Ges
negativ	5	5	10
CIN 1 / 2	3	6	9
CIN 3	7	43	50
Ca	0	1	1
gesamt	15	55	70

Tabelle 29: **Korrelation der histologischen Diagnosen und der adjuvanten Methoden während der Schwangerschaft bzw. einschließlich der des 6-monatigen postpartalen Intervalls, $p > 0,05$**

3.6 Besondere Fälle und Verläufe

Bei Betrachten des Patientinnenpools gibt es gewisse Einzelfälle oder Subgruppen, die im Untersuchungsintervall aufgrund bestimmter Befunde oder Verläufe auffallen. Im Folgenden sollen diese exemplarisch dargestellt werden.

3.6.1 Zwischenzeitlich zytologisch unauffälliger Kontrollbefund bei insgesamt auffälligem Verlauf und histologisch gesicherter CIN 3

Im Fall 67 beispielsweise handelt es sich um eine Patientin, deren zytologischer Abstrich bei Erstvorstellung in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik einen Befund der Gruppe Pap IVa aufgewiesen hatte. Im Verlauf der Schwangerschaft ergab der Kontrollabstrich eine Gruppe Pap I und nach Entbindung Pap IIID. Eine anschließende Probeexzision zeigte eine CIN 3.

Ähnliche Kontrollbefunde und -verläufe zeigten sich in insgesamt 11 Fällen (Fall 14, 26, 28, 47, 67, 68, 90, 95, 96, 103, 114). Auch hier wurden zytologisch unauffällige Befunde (Pap I oder Pap II) als Ausreißer in der Befundreihe auffällig. Da in allen Fällen eine hochgradige Dysplasie histologisch bestätigt wurde, kann davon ausgegangen werden,

dass die Zellen jeweils im Rahmen der Abstrichentnahme nicht erfasst wurden („*sampling error*“).

3.6.2 Unauffälliger Befund bei Erstvorstellung nach Überweisung aufgrund auffälliger Zytodiagnostik

In insgesamt 8 der 119 Fälle zeigte sich trotz auffälliger Zytodiagnostik bei niedergelassenen GynäkologInnen ein unauffälliger Pap-Abstrich bei Erstvorstellung in der Dysplasiesprechstunde. In 6 Fällen ergab dieser einen Befund der Gruppe Pap II, in 2 Fällen einen der Gruppe Pap III. Erst im weiteren Schwangerschaftsverlauf waren zytologische Kontrollen auffällig (Pap IIID und höher), die sich in 50% der Fälle histologisch als CIN 3 bestätigten. In drei Fällen (37,5%) lag kein histologischer Befund vor und in einem Fall (12,5%) ergab dieser kein Anhalt auf eine Dysplasie.

Eine Einzelfalldarstellung folgt für den Fall 75, in dem es sich um eine Patientin handelt, die nach Überweisung durch ihre Gynäkologin in der Frauenklinik Düsseldorf vorstellig wurde. Hier ergab sich bei Erstvorstellung zytologisch ein Befund der Klasse Pap II, histologisch aber eine CIN 3. Auch erneute Kontrollabstriche wurden zunächst als Pap II gewertet, später ergaben sich Befunde der Klasse Pap IIID. Nach Entbindung bestätigten eine PE, später auch eine LEEP den histologischen Befund einer CIN 3.

3.6.3 Schwangerschaftsverläufe mit zytologisch-histologischer Diskrepanz

Als Untergruppe des Patientinnenpools kann eine Gruppe von 5 Fällen zusammengefasst werden, in der die auffälligen zytologischen Befunde während der gesamten Schwangerschaft histologisch nicht bestätigt wurden. So ergab sich in Fällen, die bei Erstvorstellung sowie während und nach der Schwangerschaft auffällige Abstriche der Klasse Pap IIID und IVa aufwiesen, histologisch kein Anhalt auf Dysplasie. Ein Fall zeigte sich zytologisch progressiv im Untersuchungsverlauf, während die PE sich als unauffällig herausstellte. Hier wäre zu fragen, ob die Läsion bei der Gewebeentnahme möglicherweise nicht erfasst wurde.

4 Diskussion

Insgesamt erkranken in Deutschland aktuell jährlich rund 4300 Patientinnen an einem invasiven Zervixkarzinom [8]. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 55 Jahren, das eines in-situ-Karzinoms bei 35, also um rund 20 Jahre niedriger. Dieses und die jeweiligen Vorstufen werden meist im Rahmen einer gynäkologischen Vorsorge bei Patientinnen zwischen 20 und 40 Jahren festgestellt, demnach im gebärfähigen Alter. Bei bis zu 3% der Patientinnen mit neu diagnostiziertem Zervixkarzinom handelt es sich um Schwangere [43]. Die Schwangerschaft stellt hier einen besonderen Zustand und gleichzeitig ein klinisches Dilemma dar, dem diagnostisch und therapeutisch besondere Beachtung geschenkt werden muss und das in unserer Studie weiter beleuchtet wurde.

4.1 *Follow up zervikaler Veränderungen bei Schwangeren und ihr natürlicher Verlauf*

Das Zervixkarzinom stellt mit einer Inzidenz von 0,01-0,05% neben dem Mammakarzinom die häufigste Krebserkrankung bei Schwangeren dar [58]. Die Häufigkeiten auffälliger Epithelveränderungen bei Schwangeren schwanken in der Literatur. Bis zu 7% aller Schwangeren weisen einen zytologisch auffälligen Pap-Abstrich auf, histologisch lässt sich bei bis zu 3% eine CIN-Läsion nachweisen [59].

Ein auffälliger Pap-Abstrich in der Schwangerschaft und die entsprechende Behandlung wurde lange kontrovers diskutiert und kam eher sporadisch in einzelnen Praxen vor, weshalb hier eine individuelle und für angemessen erachtete Therapie vom jeweiligen Hausgynäkologen/in durchgeführt wurde. Es zeigte sich dementsprechende Variabilität und Spielraum in Diagnostik und Therapiemanagement, weshalb der Ruf nach einheitlicher Verfahrensweise lauter wurde. Das Kanalisieren schwangerer Patientinnen in zertifizierte Dysplasiesprechstunden konnte auch schon vor der Erarbeitung von weitgehend verbindlichen Leitlinien wesentlich dazu beitragen, einen Algorithmus zu etablieren (Tabelle 30), der sich zwar an das Vorgehen bei nicht schwangeren Patientinnen anlehnt, dennoch situativ an die Zeit der Schwangerschaft angepasst ist.

Pap-Gruppe nach MN III	(MN II)	Vorgehen
Pap IIIp,g,e	(Pap III)	→ zytologische Kontrolle sowie Kolposkopie, HPV-Test
Pap IIID ₁	(Pap IIID)	→ zytolog. Kontrolle nach 6 Mon. → ggf. Differentialkolposkopie
Pap IIID ₂	(Pap IIID)	→ Differentialkolposkopie sowie zytologische Kontrolle einmal pro Trimenon → ggf. PE
Pap IVa-p,g	(Pap IVa/b)	→ Differentialkolposkopie sowie zytologische Kontrolle alle 8-12 Wo. → ggf. PE
Pap V	(Pap V)	→ Differentialkolposkopie und histologische Sicherung (PE, ggf. LEEP) → ggf. Therapie

Tabelle 30: **empfohlener Algorithmus bei auffälligem Pap-Abstrich in der Schwangerschaft** [60]

Die Wahrscheinlichkeit, dass sich eine CIN 2/3-Läsion in der Schwangerschaft progressiv zu einem invasiven Karzinom entwickelt, ist gering und liegt zwischen 0-0,4% [61]. Als wesentlich wahrscheinlicher wird die Regression in der Literatur angegeben, weshalb nach heutigem Stand ein konservatives Vorgehen mit Abwarten bis nach der Geburt empfohlen wird. In einer aktuellen Veröffentlichung von Chen et al. aus dem Jahr 2021 [59] wurden u.a. 10 internationale Studien in einer Metaanalyse evaluiert, die den natürlichen Verlauf von CIN 2/3 (*High-grade CIN*) während der Schwangerschaft untersuchten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 31 wiedergegeben.

High-grade CIN		
	Anteil	95% CI
Regression	40%	35-45%
Persistenz	59%	54-64%
Progression	1%	0-2%

Tabelle 31: **Pooling der Metaanalyse - natürlicher Verlauf von CIN 2/3-Läsionen während der Schwangerschaft** [59]

Die Evaluation zeigte insgesamt eine mittlere bis hohe Heterogenität unter den einzelnen Studien. So wurden die Subgruppen von CIN 2 und CIN 3 in Bezug auf Regression und

Persistenz auch separat voneinander metaanalytisch untersucht. In 6 der 10 Studien konnten im Untersuchungszeitraum (bis zu 12 Wochen nach Geburt) einzelne schwerwiegende Progression von CIN-Läsionen beobachtet werden. Im *Pooling* ergaben sich insgesamt 10 Fälle von 695, in denen sich ein Karzinom entwickelte (0,01%). Eine weitere aktuelle Studie von Grimm (2020) bestätigt, dass konservatives Abwarten während der Schwangerschaft aufgrund einer geringen Wahrscheinlichkeit zur Progression berechtigt ist. Von insgesamt 139 untersuchten Fällen entwickelte sich in nur einem eine CIN 3-Läsion zu einem mikroinvasivem Karzinom (0,7%) [62]. Eine signifikante Heterogenität zeigte sich in den Subgruppen der von Chen untersuchten Studien, weshalb Regressions- und Persistenzraten innerhalb dieser nochmals einzeln untersucht wurden. Folgende Tabelle 32 zeigt das *Pooling* der Subgruppen von CIN 2 und CIN 3 in regressivem und persistierendem Verhalten.

	Regression	Persistenz
CIN 2	59%	40%
CIN 3	29%	70%

Tabelle 32: **Regressions- und Persistenzraten der Subgruppen, Metaanalyse des natürlichen Verlaufs von CIN-Läsionen während der Schwangerschaft** [59]

Eine Studie von Mailath-Pokorny beschreibt ähnliche Tendenzen in Bezug auf das regressive Verhalten von CIN-Läsionen in der Schwangerschaft [21]. Je höher die histologisch gesicherte Diagnose, desto geringer die Wahrscheinlichkeit der Regression. Zusätzlich wurde das Verhalten der CIN-Läsionen auch innerhalb einer nicht-schwangeren Vergleichsgruppe untersucht. So zeigte sich innerhalb des Untersuchungszeitraums in der Gruppe von Schwangeren eine signifikant höhere Regressionsrate von 56,9% im Vergleich zur nicht-schwangeren Vergleichsgruppe (31,4%). Eine komplette Ausheilung kam ebenfalls bei Schwangeren häufiger vor (41,2% zu 27,5% in der nicht-schwangeren Vergleichsgruppe). Persistierende Läsionen kamen bei Schwangeren signifikant weniger vor als in der Gruppe der Nicht-Schwangeren (39,2% vs. 58,8%). Die Progressionsrate liegt zwar höher als in der Studie von Grimm (2020) und der Metaanalyse von Chen (2021), ist mit 3,9% dennoch aber sehr gering. Wobei hier anzumerken ist, dass sich in keinem Fall ein Karzinom entwickelte und somit ebenfalls ein abwartendes Vorgehen während der Schwangerschaft rechtfertigt. Mailath-Pokorny et al. geben in ihrer Studie an, dass die Schwangerschaft mit ihren physiologischen Besonderheiten signifikant einen regressiven Einfluss hat auf den natürlichen Verlauf von CIN-Läsionen.

Schaut man sich in unserer Studie die Patientinnen an, die bei Erstvorstellung in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik des UKD einen auffälligen Pap-Befund aufwiesen, so zeigt sich in Korrelation mit der gesicherten Histologie eine wesentlich geringere Regressionsrate von 11,3%. Von 80 Patientinnen wiesen 9 Patientinnen einen Befund \geq Pap IIID auf, der histologisch nicht mehr nachzuweisen war (Tabelle 11).

Ein progressives Verhalten innerhalb des Patientinnenpools kam bei insgesamt 30 von 80 Patientinnen zum Tragen – 29 Fälle der Befundklasse Pap IIID entwickelten sich histologisch zu einer CIN 3 und ein Fall der Gruppe Pap IVa zu einem Karzinom. Die Progressionsrate liegt ebenfalls entgegen der Metaanalyse von Chen (2021) höher bei 37,5%. In 10 Fällen (12,5%) korrelierte der zytologische Erstbefund mit der histologischen Diagnose und lässt sich somit als persistierende Läsion definieren. Dabei sei nochmal betont, dass der Begriff der „zytologischen Erstdiagnose“ hier auf die Erstvorstellung in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik Düsseldorf bezogen ist und somit mindestens ein auffälliger auswärtiger Abstrichbefund existieren muss, auf den die Überweisung der Patientinnen ins UKD zurückging.

4.1.1 Der Vergleich zu Nicht-Schwangeren und Einordnung in die Literatur

Wie bereits in der oben genannten Metaanalyse erwähnt, ist die kontrovers diskutierte Heterogenität innerhalb der Studienlage zu bedenken. So zeigt eine Untersuchung von Motamedi et al. aus dem Jahr 2015 kontroverse Ergebnisse im Hinblick auf das Regressionsverhalten nicht-schwangerer Patientinnen [63]. Eine Gruppe von 635 Patientinnen mit diagnostizierter CIN 3 wurde nach Biopsie über einen Zeitraum von bis zu 463 Tagen (66 Wochen) evaluiert. Im Vergleich zu den oben genannten und Schwangerschaft beachtenden Studien zeigt diese eine Regression der CIN 3 zu \leq CIN 1 in nur 8 der 635 untersuchten Fälle (1,3%). 39 Fälle, die als CIN 2 diagnostiziert wurden (6,1%), galten weiter als *High-grade lesions* und wurden als persistierend klassifiziert. In 588 Fällen (92,6%) persistierte die CIN 3 als solche oder entwickelte sich zu einem invasiven Karzinom (12/635, 1,9%). Hier sei erwähnt, dass alle 635 Patientinnen mittels CINtec Plus-Verfahren als p16-positiv detektiert wurden und in 97,8% eine *HPV-high-risk*-Infektion zugrunde lag. Schaut man sich in unserer Studie die Korrelation zwischen den Ergebnissen der CINtec Plus-Bestimmungen und gesicherten CIN 3 an, so liegt die Detektionsrate bei mindestens 70% (Tabelle 24). Nimmt man die Möglichkeit der DNA-Bildzytometrie zur Diagnostik ergänzend dazu, so steigt die Detektionsrate auf 86% (Tabelle 19 bzw. 29). Hier könnte langfristig die Idee von Motamedi (2015) aufgegriffen und die Verläufe gesicherter CIN 3-Läsionen in einer p16-

positiven Kohorte und p16-negativen Vergleichsgruppe evaluiert werden. Dies könnte bei der kontroversen Literaturlage und der Frage nach Prognosen und Therapiemanagement richtungsweisend sein.

Eine aktuellere Metaanalyse von Zhang (2019) zeigt ebenso Ergebnisse nicht-schwangerer Patientinnen. Sie befasst sich ähnlich zu der oben genannten Metaanalyse von Chen (2021) u.a. mit Regressionsverhalten in 16 Studien, in denen insgesamt 1481 Patientinnen mit diagnostizierten CIN-Läsionen untersucht wurden [64]. Die Regressionsrate von 42,7% bei *high-grade* Läsionen kann im weiten Sinne zu Vergleichszwecken mit der der schwangeren Kohorte von Chen herangezogen werden (40%, siehe Tabelle 31). Wobei auch hier auf die Heterogenität hingewiesen werden muss, da das regressive Verhalten von CIN 2 mit 50,9% höher liegt als in Studien ohne Unterscheidung der Subgruppen von CIN 2/3 (36,3%). Die spontane Regression von cervikalen intraepithelialen Neoplasien wurde insgesamt als hoch eingestuft, wobei diese mit positiver HPV-Testung und steigendem Alter negativ beeinflusst wird. Für die Auswertung des progressiven Verhaltens standen weniger Daten (von 5 Studien) zur Verfügung, die eine Progressionsrate von 10,2% ermitteln ließen. Im Vergleich zur Progressionsrate bei Schwangeren von im Schnitt 1% (Chen, 2021) liegt sie 10fach höher. Dies unterstützt die Annahme von Mailath-Pokorny (2016), dass eine Schwangerschaft die natürliche Entwicklung zervikaler intraepithelialer Läsionen günstig beeinflusst bzw. zumindest sich nicht ungünstiger auswirkt als bei nicht-schwangeren Patientinnen [21].

Die Studienlage bezüglich intraepithelialer Veränderungen und deren Verlauf ist somit weit aufgestellt und zeigt eine enorme Spannweite in den vorgestellten Ergebnissen schwangerer und nicht-schwangerer Patientinnen – leider selten in direktem Vergleich, sodass die Vergleichbarkeit nur unzureichend gelingt. Dies liegt u.a. daran, dass bei nicht-schwangeren Patientinnen ein aktives Therapiemanagement angestrebt wird, wohingegen bei Schwangeren zunächst passiv beobachtet und abgewartet wird. Die Gegenüberstellung beider Kohorten aus unterschiedlichen Studien bedingt so auch unterschiedliche Bedingungen untersuchter Parameter. Folgende Tabelle 33 zeigt einen Überblick im Verlauf intraepithelialer Läsionen bei schwangeren und nicht-schwangeren Patientinnen.

HSIL (≥ CIN2)	Schwangere	Nicht-Schwangere
Regression	17 - 69,3%	43 - 57%
Progression	0 - 13,3%	11 - 27%
Persistenz	27 - 70,0%	23 - 42%

Tabelle 33: Vergleich von CIN-Verläufen bei Schwangeren [62] und Nicht-Schwangeren [65]

4.1.2 Therapiemanagement und Algorithmus in der Schwangerschaft

Allen Empfehlungen gemein ist, dass die wenigen Fälle, die sich langfristig zu einem invasiven Karzinom entwickeln, nicht außer Acht gelassen werden dürfen. Trotz aller ermittelten Regressionsraten müssen persistierende und progressive intraepitheliale Neoplasien weiter beobachtet bzw. nach empfohlenem Algorithmus behandelt werden [60]. Dieser wird folgend für histologisch gesicherte Diagnosen in der Schwangerschaft tabellarisch zusammengefasst (Tabelle 34).

Vorgehen	
CIN 1	<ul style="list-style-type: none"> → keine weitere zytologisch-kolposkopische Kontrolle, wenn hochgradige Dysplasie oder invasives Ca zytologisch/kolposkopisch/ggf.histologisch ausgeschlossen → Kontrolle 6-8 Wo. postpartal
CIN 2	<ul style="list-style-type: none"> → Progression oder invasives Ca ausschließen → zytologische/kolposkopische Kontrolle im 8-12Wo.-Intervall → bei Verdacht auf Progression histologische Kontrolle durch erneute Biopsie → Kontrolle 8-10 Wo. postpartal
CIN 3	→ siehe CIN 2
invasives Ca	<ul style="list-style-type: none"> → histologisch gesichert durch PE/LEEP → interdisziplinäre Therapie nach aktueller S3-LL „Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientin mit Zervixkarzinom“, abhängig von Tumorstadium, Tumorbilogie und Gestationsalter

Tabelle 34: empfohlener Algorithmus bei histologisch gesicherter Diagnose einer CIN-Läsion während der Schwangerschaft [60]

Im Anschluss folgt bei der postpartalen Kontrolle von CIN 1/2-Läsionen zunächst ein zytologischer Pap-Abstrich und bei Bedarf ein HPV-Test. Aktuell ist aufgrund der beobachteten Wahrscheinlichkeiten einer Regression ein zurückhaltendes Abwarten die Therapie der Wahl. Patientinnen mit diagnostizierter CIN 3 werden in der Regel operativ therapiert, wobei auch hier Regressionen und Remissionen (siehe oben) bekannt sind. Hier spielt häufig der zeitliche Faktor eine erhebliche Rolle, was sich für viele Patientinnen zu einer psychischen Belastungsprobe entwickeln kann. Dies ist individuell abzuwägen. Die Beruhigung und interdisziplinäre Betreuung erkrankter Patientinnen ist demnach unumgänglich, was sich in einer zertifizierten Dysplasiesprechstunde am besten umsetzen lassen dürfte. Die Kenntnis einer bestehenden Schwangerschaft sowie die klinische Erfahrung im Rahmen des Gebärmutterhalskrebsscreenings bei Schwangeren kann falsch-positive Befunde, sowie Übertherapien verhindern. Studien zeigen, dass kolposkopische Befunde bei erfahrenen Untersuchern meist mit den histologischen und zytologischen Befunden korrelieren. Schwangere Frauen können so im klinischen Dilemma zwischen stadiengerechter Therapie und abwartender Haltung durch fachliche Aufklärung und psychische Begleitung kompetent aufgefangen werden [49, 50].

Trotz großer Erfolge des bestehenden Screeningverfahrens zur Gebärmutterhalskrebsfrüherkennung und so Senkung der Neuerkrankungs- und Sterberate, sind die aktuell immerhin stabilen Inzidenzen von Neuerkrankungen und Sterblichkeit in Deutschland immer noch relativ hoch. Jüngste Zahlen des RKI von 2018 zeigen 4320 Neuerkrankungen und 1612 Sterbefälle [8]. Im europaweiten Vergleich von 9 ausgewählten Ländern liegt Deutschland damit im Mittelfeld, das Nachbarland Schweiz verzeichnet die niedrigsten Inzidenzen. Im Vergleich lag die Sterberate 2018 in Deutschland 2,3 mal höher als in der Schweiz. Hier ist am 01. Januar 2020 das Krebsregistrierungsgesetz in Kraft getreten und ermöglicht somit eine möglichst vollständige Erfassung von Krebserkrankungen. Der Erfassungszeitraum zur Berechnung aktueller Inzidenzen lag zwischen 2013 und 2017 und zeigt eine mittlere Neuerkrankungsrate von 258 und eine Mortalitätsrate von 73 Patientinnen pro Jahr [66]. Im Vergleich stellt sich die Frage nach Optimierungsbedarf im Screeningverfahren und in Bezug auf das Diagnose- und Therapiemanagement in Deutschland, um die aktuell stabilen Zahlen weiter zu senken.

Im Gegensatz zu vielen Ergebnissen der Literatur kann innerhalb unserer Studie das natürliche Verhalten auffälliger intraepithelialer Läsionen differenziert in zytologischer Verlaufskontrolle oder in histologischer Korrelation wie oben untersucht werden. Betrachtet man lediglich die zytologischen Befunde in ihrem Verlauf bis nach Geburt,

ergeben sich abweichende Regressions- und Progressionsraten aus unserer Studie als die oben beschriebenen unter Berücksichtigung der histologischen Befunde.

Von 80 Patientinnen – zur besseren Vergleichbarkeit den gleichen histologisch gesicherten Patientinnenpool – stellten sich 47 Patientinnen nach Auffälligkeit *alio loco* mit einem Befund der Klasse Pap IIID in der Frauenklinik des UKD vor (Tabelle 10). Davon zeigten 10 (21,3%) in ihrer zytologischen Verlaufskontrolle eine Verschlechterung zum Pap IVa, 4 eine Verbesserung und damit eine Regressionsrate von 8,5%. Der Trend geht in Richtung Progression.

In 28 Fällen wurde der Erstabstrich als Pap IVa klassifiziert, von denen einer sich progressiv zum Pap V entwickelte (3,6%), wohingegen 4 Fälle (14,3%) in der zytologischen Verlaufskontrolle einer geringeren Befundklasse zuzuordnen sind. Hier ist der Trend eher gleichbleibend mit einer Persistenzrate von 64,3%.

Fasst man beide auffälligen Befundklassen Pap IIID und IVa zu einer zusammen, ergibt sich in der zytologischen Verlaufskontrolle unserer Studie eine Regressionsrate von 10,7%, die der Evaluierung unter Berücksichtigung der Histologie in etwa gleicht (siehe oben, 11,3%). Die Progressionsrate liegt mit 14,7% deutlich niedriger als oben unter histologischer Korrelation beschrieben mit 37,5%. Es zeigen sich also auch innerhalb einer Screeningpopulation Diskrepanzen, die u.a. jeweiligen Diagnoseverfahren, -mittel und auch untersuchendem Personal zuzuschreiben sind.

Es gibt Patientinnen innerhalb einer Screeningpopulation, bei denen trotz vorliegender Veränderung kein auffälliger Zellbefund erhoben wird. Sei es, weil die Zellen auf den Abstrichen nicht vorhanden waren ("*sampling error*"), oder weil die Zellen auf den Abstrichen nicht erkannt oder nicht richtig interpretiert wurden ("*screening error*"). Insgesamt gilt der *sampling error* als deutlich häufiger; das Verhältnis beider Fehlerarten wird im Verhältnis von ca. 2:1 geschätzt [67]. Neben der Erfahrung der Untersucher gilt auch dies als zu beachtender Faktor für die oben genannte Variabilität im Rahmen der Diagnostik.

Zahlen aus einer früheren Studie in der Cytopathologie in Düsseldorf belegten dabei an 590 Fällen der Gruppe IIID, dass bei histologischer Abklärung mittels Biopsie seltener eine CIN 3 diagnostiziert wurde (49,5%) als mittels Konisation (68,3%) [68]. Eine mögliche Begründung diskrepanter Befundung liegt in der nicht repräsentativen Entnahme des dysplastischen Gewebes in der Biopsie. Ebenso ist der Ort der zytologischen und histologischen Entnahmen nie identisch. Auch kann bezogen auf die Situation in der Schwangerschaft, der Zeitpunkt der Entnahme, vor oder nach Geburt und wie weit danach, eine repräsentative Diagnostik ungünstig beeinflussen. Insgesamt wird in der Literatur bislang kaum eine Differenzierung in dieser Richtung vorgenommen,

was den Vergleich unterschiedlicher Datenlagen, selbst innerhalb einzelner Studien, erschwert. Um zu vermeiden, dass eine präkanzeröse oder prospektiv maligne Läsion übersehen wird, wäre bei der Konstellation einer positiven Zytologie und einer negativen oder deutlich niedriger eingestuften, wenn auch auffälligen Histologie eine anschließende DNA-bildzytometrische Messung zur Objektivierung sinnvoll. Der Vorteil ist das bereits zur Verfügung stehende Material, das nachträglich ohne zusätzliche Untersuchung der Patientin weiterverwendet werden kann.

4.1.3 Fehlerquellen und -interpretation: Grenzen morphologischer Diagnostik

Sowohl bei der zytologischen als auch bei der histologischen Befundung handelt es sich um Diagnostikverfahren, die von Ausbildung, Expertise und subjektiver Wahrnehmung abhängen. Das untersuchende Personal ist ein nicht zu vernachlässigender Faktor, der zu Fehlinterpretationen und biologischen Schwankungsbreiten beiträgt. Die Einteilung von Pap-Klassen, sowie intraepithelialer Neoplasien in CIN-Klassen ist ein Versuch, Abweichungen und Veränderungen des definierten Normzustandes anhand von auffälligen Merkmalen zu kategorisieren und so eine möglichst exakte Diagnose zu stellen. Bedenkt man jedoch, dass das natürliche Verhalten von intraepithelialen Läsionen einem dynamischen und kontinuierlichen Entwicklungsprozess unterliegt, liegt eine Ursache für Diskrepanzen bereits in der abgrenzenden Kategorisierung. Die Befundung erfolgt individuell und subjektiv abhängig vom Untersuchenden und erfordert schließlich eine scharfe Abgrenzung des Befundes innerhalb eines biologischen Materials.

Beim zytologischen Abstrichverfahren können sich die oben beschriebenen Fehlerarten ergeben, die eine zusätzliche Befundungsvarianz erlauben. Bei der histologischen Befundung und Kategorisierung in CIN-Klassen liegt die Einteilung der Schleimhauthöhe in Dritteln zugrunde. Sind auffällig proliferierte Zellen im ersten der Basalmembran aufliegenden Drittel zu finden, spricht man von leichter Dysplasie und wird als CIN 1 klassifiziert. Reichen sie bis ins mittlere Drittel der Epithelhöhe, handelt es sich als mittelgradige Dysplasie um eine CIN 2. Bei einer schweren Dysplasie bzw. CIN 3 reichen atypische Zellen ins obere Drittel bis hin zur Epitheloberfläche und durchsetzen die gesamte Schleimhauthöhe. Ist die Basalmembran intakt, handelt es sich um ein Carcinoma in situ, darüber hinaus um ein invasives Karzinom. Die folgende Abbildung 7 visualisiert die Problematik der exakten Abgrenzung und Klassifizierung von CIN-Läsionen.

Histologie	Normales Epithel	CIN 1	CIN 2	CIN 3	Karzinom
Bethesda	NILM	LSIL	HSIL / AIS		Carcinoma
München II	Pap I	Pap IIIId	Pap IIIId	Pap IVa	Pap IVb / V
München III	Pap 0	Pap IIIId 1	Pap IIIId 2	Pap IVa _{p/g}	Pap IVb _{p/g} / V _{p/g/e/x}

Abb. 7: Die histologische Entwicklung von CIN-Läsionen und die Zuordnung der Abstrichklassifizierung nach Papanicolaou [69]

Mit der Problematik der Reproduzierbarkeit histologischer Diagnosen befasste sich eine repräsentative Studie von Dalla Palma et al., in der jeweils zwei unabhängige Gutachter bereits befundene Fälle erneut nach CIN 1, 2, 3 und (invasivem) Karzinom klassifizieren sollten [70]. Insgesamt standen 1003 Fälle zur Reklassifizierung (*Review*) zur Verfügung. Die Übereinstimmung der Diagnosen beider Gutachter wurde mittels Kappa-Koeffizient berechnet, der das Maß bzw. den quantitativen Grad der Übereinstimmung beschreibt. In dieser Studie beschreibt Kappa die Interobservervariabilität, d.h. verschiedene Untersuchende betreffend. Dem steht die sog. Intraobservervariabilität entgegen, bei der Kappa die Übereinstimmung erneuter Bewertung *eines* Untersuchers zu verschiedenen Zeitpunkten misst. Ist diese Variabilität hoch, ist die Beurteilung des Befundes stark abhängig von der momentanen Einschätzung und Verfassung des Untersuchers. Hier wird ein weiterer Faktor deutlich, der die biologische Schwankungsbreite beeinflusst, in dieser Arbeit allerdings nicht weiter diskutiert wird.

Der ungewichtete Kappa der Interobservervariabilität betrug in der genannten Arbeit 0,36 und wird als schwache Übereinstimmung gewertet. Der gewichtete, d.h. den Grad der Diskordanz berücksichtigend, ist höher mit 0,54 und zeigt eine deutlichere Übereinstimmung der beurteilten Befunde. Auffällig war die niedrigste Übereinstimmung in der Klasse der CIN 2-Diagnose mit weniger als 50%. Hier wird deutlich, dass gerade im mittleren Bereich der Schleimhauthöhe die Grenzen individuell gesetzt werden und in den jeweiligen Dritteln verlaufen können, sodass die Diagnose der CIN 2 kein klar

definiertes Stadium der Pathogenese zervikaler intrapithelialer Neoplasien darstellt bzw. schwieriger zu identifizieren ist als atypische Zellen einer CIN 1 oder CIN 3 [71].

	Untersucher 1		Untersucher 2				
	normal	CIN 1	CIN 2	CIN 3	Ca	andere	gesamt
normal	54	89	6	1	0		150
CIN 1	80	268	57	9	2		416
CIN 2	8	63	112	53	1		237
CIN 3	0	9	59	111	2		181
Ca	0	0	0	4	1		5
andere							14
gesamt	142	429	234	178	6	14	1003

Tabelle 35: **Korrelation von nachbeurteilten CIN-Läsionen von jeweils unabhängigen Gutachtern** [70], „andere“ = Diagnose außerhalb der Klassifizierung von normal, CIN 1-3 und Karzinom (Ca), wie z.B. unzureichend oder anderweitig beschrieben

Wenn wir uns auf die für unsere Studie relevanten Diagnosen beschränken, so ergibt sich aus der Tabelle 35 ein Pool von 989 Fällen, die als normal befundet bzw. als CIN 1, 2, 3 oder Karzinom diagnostiziert wurden. Die ausgelassenen 14 Fälle wurden anderweitig beschrieben und werden in dieser Diskussion außer Acht gelassen. Die Übereinstimmung beider Untersucher ergibt sich durch die Addition der Diagonalen von links oben (normal) zu rechts unten (Ca) und ergibt eine Summe von 546 Fällen (55,2%). Eine Abweichung von +/- 1 liegt in 407 Fällen (41,2%) und eine stärkere Abweichung von +/- 2 in 33 Fällen vor (3,3%). Die größten Abweichungen von +/-3 kommen in 3 Fällen (0,3%) vor. In einem Fall stellt Untersucher 1 keinerlei Veränderung fest, während Untersucher 2 von einer CIN 3 ausgeht. In zwei Fällen wurde die Läsion als Karzinom bzw. CIN 1 bewertet. Insgesamt ergibt das eine Diskordanz von 44,8% und spiegelt damit den nicht zu vernachlässigenden Faktor der Interobservervariabilität wider.

Wie in Kapitel 2.2 „Befunderhebung“ beschrieben, gilt allgemein im Funktionsbereich der Cytopathologie das Prinzip der Doppelbefundung zur Verminderung der Variabilität in der Diagnosestellung. Auch die histologischen Diagnosen in unserer Studie gehen allesamt auf diese einrichtungsinterne Doppelbefundung zurück. In der Zytologie erfolgte das Primärscreening der Präparate durch eine Zytologieassistentin, die Fallabnahme durch einen Facharzt für Pathologie. In der Histologie werden die Präparate zunächst von einem Assistenzarzt in Weiterbildung zum Pathologen untersucht und dann ebenfalls fachärztlich abgenommen.

Weitere Studien wie die von Stoler et al. (2001), Carreon et al. (2007) oder Ceballos et al. (2008), bei denen 22 internationale Pathologen am *Review* histologischer Diagnosen intrazervikaler Dysplasien beteiligt waren, beschäftigten sich ebenfalls mit der Frage der Reproduzierbarkeit in der Befundung [71-73]. Die Ergebnisse sind ähnlich und lassen damit die Kontroverse über die Histologie als ausreichend effektives Diagnoseverfahren weiter bestehen, sowie den Ruf nach Objektivierungsmöglichkeiten. Dem Zweifel stehen wie oben erwähnt Studien entgegen, die eine hohe Übereinstimmung der histologischen Ergebnisse mit denen anderer Diagnoseverfahren in Kombination zeigen, wie z.B. der Kolposkopie oder zytologischen Abstrichdiagnostik [49, 50]. Für die kombinierte Diagnostik spricht die rückläufige Entwicklung der Erkrankungs- und Sterberaten, wobei sich aktuell die Zahlen stabil halten und so im Hinblick auf die weitere Senkung der Inzidenzen noch Spielraum zur Optimierung besteht.

4.2 Möglichkeiten und Grenzen adjuvanter Methoden im Therapiemanagement

Bei der Vermeidung von Fehlerquellen wie des *sampling errors* sind adjuvante Methoden der Morphologie nicht von Nutzen, wohl aber bei der Vermeidung von Fehlinterpretationen. Hier könnten zur effizienteren Identifizierung von präkanzerösen Läsionen adjuvante Diagnostikverfahren herangezogen werden. In unserer Studie konnte in 70 von 80 histologisch gesicherten Fällen die Diagnose meistens mit Hilfe von mindestens einer adjuvanten Methode bestätigt werden. Die Ergebnisse waren entweder dokumentiert oder konnten im Nachhinein anhand archivierter Objektträger bei ausreichendem Zellmaterial DNA-bildzytometrisch gemessen werden. Bei zu geringer Zellzahl hingegen wurden mittels CINtec Plus dysplastische Zellen immunzytochemisch gefärbt und mikroskopisch dargestellt, da hierbei lediglich eine auffällige Zelle für eine positive Diagnose ausreichend ist. In 10 Fällen von 80 konnte aufgrund mangelnder Qualität oder Quantität des Zellmaterials keine der beiden adjuvanten Methoden angewandt werden.

Die Ergebnisse bzw. Korrelation der DNA-Bildzytometrie und CINtec Plus-Immunzytochemie werden im Folgenden zunächst separat diskutiert, später dann zusammengefasst als einziges Diagnostikmittel unter der Fragestellung, ob bei unsicherer Interpretationslage zusätzliche Diagnostik Sicherheit schaffen könnte.

4.2.1 DNA-Bildzytometrie als klinische Sondermethode

Die meisten DNA-bildzytometrischen Messungen (46/80) erfolgten bereits während der Schwangerschaft bei auffälligen bzw. unsicherer Diagnose, 10 weitere wurden postpartal dazu gewonnen, sodass insgesamt 56 histologisch gesicherte Fälle auch DNA-bildzytometrisch bewertet wurden.

Die Tabelle 18 zeigt übersichtlich die Korrelation zwischen den DNA-bildzytometrischen Ergebnissen und dem höchstem zytologischen Befund präpartal bzw. unter Berücksichtigung der 6-monatigen postpartalen Kontrolle. Innerhalb der Gruppe der Pap IVa/b konnten bis zu 92,3% der Fälle (27/30 bzw. 36/39) als aneuploid bestätigt werden, lediglich 3 Fälle aus der Gruppe der Pap IVa/b bestätigten sich nicht. Im Gegensatz dazu stellt die Gruppe der Pap IIID eine inhomogenere Gruppe dar, in der ca. 50% als unauffällig diagnostiziert wurden (8/15 präpartal, 8/16 einschließlich postpartaler Kontrolle).

Hier stellt sich die Frage, inwieweit die Ergebnisse der Zytologie mit denen der Histologie korrelieren und welche histologische Diagnose hinter bildzytometrisch unauffälligen Befunden der Gruppe der Pap IIID steckt. Die Tabelle 19 gibt Aufschluss über die Korrelation zwischen histologischer und DNA-bildzytometrischer Diagnose. Dabei zeigt sich prozentual ein ähnlicher inhomogener Trend innerhalb der Gruppe der CIN 1/2, in der ebenfalls 50% (2/4) als aneuploid diagnostiziert wurden. Absolut zeigt sich anhand der Tabelle 18 und 19 allerdings, dass die Anzahl der aneuploiden Fälle der Gruppe Pap IIID deutlich höher liegt als in der Gruppe der CIN 2 und somit histologisch teils in die Gruppe der CIN 1 oder CIN 3 kategorisiert wurden.

Bei als Pap IVa oder höhergradig bewerteten Abstrichen ist eine zusätzliche DNA-bildzytometrische Diagnostik aufgrund der hohen Korrelation zu CIN 3-Läsionen im Grunde nicht notwendig, sofern sie nicht zur Verifizierung signifikanter Veränderungen benötigt wird. Dieses könnte der Fall sein, wenn trotz histologischer Abklärung der zytologische Befund nicht bestätigt werden konnte, d.h. wenn sich geringere Dysplasien oder keine dysplastischen Veränderungen zeigen würden.

Eine Studie von Henning et al. (2002) befasste sich mit auffälligen Abstrichen während der Schwangerschaft zwischen 1970 und 2000 und den bis dato uneinheitlichen Therapieverfahren, um erste Konzeptversuche zu gestalten. Auffällig und zu berücksichtigen war die zunehmend zurückhaltende Haltung histologischer Abklärung in Form einer Konisation. Die Ergebnisse zeigten, dass rund 20% der vorher als Pap IIID diagnostizierten Fälle histologisch geringer eingestuft wurden und in 80% die zytologische Diagnose histologisch bestätigt werden konnte [74].

In der Gruppe der Pap IVa wurden zytologische Diagnosen ebenfalls in 80% der Fälle auch histologisch bestätigt. Anders als in der Gruppe der Pap IIID wurden allerdings in jedem 10. Fall histologisch höhergradige Läsionen festgestellt als es sich zytologisch vermuten ließe. In 5 Fällen zeigten sich gar Mikrokarzinome. Es zeigte sich ähnlich wie in unserer Studie, dass die Gruppe der Pap IVa zwar insgesamt größtenteils als solche diagnostiziert wird, dennoch Einzelfälle übersehen werden.

In einer Diskussion zum Beitrag einer optimierten Konzeptdarstellung bei auffälligem Abstrich in der Schwangerschaft von Henning et al. wurde von Böcking u.a. der Einsatz der DNA-Bildzytometrie vor genau 20 Jahren vorgeschlagen. Ein Nachweis von Aneuploidie charakterisiert die Läsion als präkanzerös bis maligne. In mehreren Studien konnten positive als auch negative Prädiktionswerte im Mittel von über 90% nachgewiesen werden. Erstere zeigen prognostisch die sanierungsbedürftige Entwicklung leichter bis mittelgradiger Dysplasien zum Carcinoma in situ innerhalb der nächsten zwei Jahre an, während der hohe negative Prädiktionswert von euploiden Dysplasien eine zytologische Kontrolle in 3-Monatsintervallen als ausreichend erlaubt. Damit eignet sich die DNA-Bildzytometrie als prognostisches Hilfsmittel bei der Therapieentscheidung [75]. In der Studie mit 497 Patientinnen ergab sich in der Gruppe der Pap IIID ein positiver Prädiktionswert von 95% [76]. Der hohe Prädiktionswert beschreibt wie oben beschrieben die Wahrscheinlichkeit, wie viele der DNA-bildzytometrisch auffälligen Patientinnen tatsächlich an einem Carcinoma in situ erkranken und sich somit einer Konisation unterziehen sollten. Der gleichzeitig hohe negative Prädiktionswert von 98% zeigt andersherum die Vorhersagekraft, dass mittels Testverfahren als euploid gesunde Patientinnen auch tatsächlich gesund bleiben [76]. Die Konsequenz ist eine ausreichende zytologische Kontrolle in einem definierten Intervall ohne invasives Vorgehen. Weitere Studien kamen auf ähnliche positive Prädiktionswerte (85 – 100%), was den Stellenwert der DNA-Bildzytometrie als adjuvantes Diagnostikmittel für Gebärmutterhalskrebs unterstreicht [25, 77, 78]. Chatelain et al. wiesen bei 13 Patientinnen mittels DNA-Aneuploidie maligne Läsionen nach, die sich in der Nachsorge bei 12 Patientinnen histologisch als Carcinoma in situ bestätigten. In dieser allerdings kleinen Studie zeigte die Methode somit eine Sensitivität von ca. 90% [25]. Kashyap et al. untersuchten in ihrer Studie ebenfalls den positiven Prädiktionswert anhand der Ergebnisse von 310 Zervixabstrichen von insgesamt 80 Patientinnen, von denen sich nachträglich 53 Fälle progressiv und 27 Fälle regressiv entwickelten. Eine Aneuploidie konnte in der progressiven Gruppe insgesamt in 69,8% nachgewiesen werden, wobei 40,0% leichte Dysplasien als aneuploid auffielen, 71,9% der mittelgradigen und 90,9% der schweren [77]. Die Aneuploidie steht in direkter

Korrelation mit dem Grad der Dysplasie und der Malignität, weshalb sich prognostische Aussagen erlauben.

Inzwischen wird auf den Stellenwert der DNA-Bildzytometrie auch in Standardwerken der Gynäkopathologie verwiesen, so bei Wright et al. im Lehrbuch „*Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*“ [79].

4.2.2 CINtec Plus als klinische Sondermethode

Ein Vorteil der immunzytochemischen CINtec Plus-Methode im Gegensatz zur DNA-Bildzytometrie ist, dass diese nicht von der Quantität der Zellen abhängig ist, sondern eine einzelne doppeltgefärbte Zelle zur positiven Diagnose ausreicht. In unserer Studie wurde daher zur Diagnosestellung bei unzureichender Zellzahl auf CINtec Plus zurückgegriffen, um der Fragestellung nachzugehen, inwiefern sich diese als adjuvante Diagnostikmethode zur verlässlichen Prognose eignet.

Insgesamt standen uns für 34 von 80 histologisch gesicherten Fällen eine immunzytochemische Diagnostik mittels CINtec Plus zur Verfügung, wobei die meisten davon (29/34) bereits in der Schwangerschaft durchgeführt und 5 weitere im postpartalen Kontrollintervall dazugewonnen wurden. Die Tabelle 23 zeigt die Korrelation der höchsten zytologischen Diagnose im gesamten Untersuchungsintervall der Schwangeren bis 6 Monate postpartal und der immunzytochemischen Diagnose durch CINtec Plus. In der Gruppe der Pap IVa/b konnten über 81% der Fälle auch immunzytochemisch als auffällig bewertet werden (84,2% prä-, 81,8% einschließlich postpartaler Kontrolle). Maximal 2 Fälle des Patientinnenpools der Gruppe ließen sich nicht als auffällig bestätigen. In der Gruppe der Pap IIID zeigt sich hingegen, dass während des gesamten Kontrollintervalls nur in maximal 50% (6/12) die zytologische Auffälligkeit mittels CINtec Plus bestätigt werden konnte. Den Zeitraum der Schwangerschaft betrachtet waren nur 40% CINtec positiv (4/10), also über die Hälfte der Gruppe Pap IIID galt immunzytologisch als unauffällig.

Nach eigenen Angaben der Firma Roche verbergen sich hinter 15-20% der leicht- bis mittelgradigen Dysplasien höhergradige Läsionen, die mittels CINtec Plus identifiziert würden. In unserer Studie liegen die Zahlen noch höher. Die Korrelation zeigt in einer Übersicht die Tabelle 24. So zeigt sich in 66,7% (6/9) der histologisch unauffälligen bzw. leicht-/mittelgradigen Läsionen ein CINtec Plus-positives Ergebnis. In der Gruppe der CIN 3 lag die Rate ähnlich hoch mit 70%, was umgekehrt bedeutet, dass 30% der als hochgradig diagnostizierten Fälle unentdeckt blieben.

Hier stellt sich in der Gruppe der Pap IIID die Frage, was histologisch hinter den immunzytochemisch unauffälligen Befunden steckt. In der Gruppe der CIN 1/2 können 80% (4/5) immunzytochemisch positiv detektiert werden. Hier zeigt sich, dass mittels CINtec Plus die Detektionsrate in Korrelation mit der Histologie in der Gruppe der leichten bis mittelschweren Zellveränderungen doppelt so hoch ist als die in der oben genannten Korrelation mit der Zytologie der Gruppe Pap IIID.

In der Literatur wurde in den letzten zehn Jahren das Augenmerk vermehrt auf die inhomogene Gruppe der mittelschweren CIN 2 gelegt, da Läsionen der Gruppe CIN 3 relativ verlässlich durch hohe Trefferquoten mittels Pap- und HPV-Testung gefiltert werden konnten. Bei zuverlässiger Spezifität des Pap-Tests von 98% schwanken die Angaben zur Sensitivität in der Literatur zwischen 50-80% bei einmalig entnommenen Abstrichen [14, 15]. Bei jährlicher Wiederholung oder durch adjuvante Methoden wie z.B. die Bestimmung der Biomarker p16/Ki-67 oder HPV-Testung kann diese auf über 90% gesteigert werden – weshalb auch heute noch die Zytologie in Ländern mit entsprechenden Mitteln und Fachkenntnissen als verlässlich gilt [18, 80].

Verglichen mit Daten der allgemeinen Literatur liegt die Sensitivität der immunzytochemischen Methode zwischen 62-94% [34, 81, 82], während die Spezifität sogar noch größeren Schwankungen zwischen 39-96% unterliegt [81, 83]. Selbst bewirbt die Firma Roche ihr Produkt zur immunzytochemischen Bestimmung der Biomarker mit einer höheren Sensitivität von bis zu 93% bei ähnlicher Spezifität ($\geq 95\%$) im Vergleich zum Pap-Test. Die folgende Tabelle 36 zeigt eine Übersicht von *Reviews* und *Metanalysen* über immunzytochemische Untersuchungen der Gruppe CIN 2+ von 2011 bis 2019. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass der Vergleichbarkeit der Studienergebnisse aus der Literatur und unserer Studie aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns und Kategorisierung auffälliger Befunde und Patientinnen Grenzen gesetzt sind. So zeigen sich beispielweise gar innerhalb PALMS-Studie von Ikenberg et al. (2013) je nach Pooling unterschiedliche Zahlen. Abgesehen davon sei erwähnt, dass Studien teils auch von Sponsoren mitfinanziert wurden, was in dem Zusammenhang kritisch hinterfragt werden darf. Insgesamt können die Zahlen daher nur eingeschränkt miteinander verglichen werden und beziehen sich im Folgenden der einfacheren Übersicht halber auf die allgemeinen Studienergebnisse ohne Berücksichtigung einzelner Teilkollektive innerhalb der Studien.

Studie	Sensitivität %	Spezifität %
Schmidt et al. 2011 [34]	94,2	68,0
Ikenberg et al. 2013 [35]	86,7	95,2
Zappacosta et al. 2013 [83]	88,1	39,4
Waldstrom et al. 2013 [84]	88,4	51,3
Killeen et al. 2014 [82]	94,3	61,9
Wright et al. 2017 [85]	70,3	75,6
Prigenzi et al. 2018 [81]	61,5	96,2
Peeters et al. 2019 [86]	85,0*	71,5*

Tabelle 36: **Übersicht der Sensibilitäts- und Spezifitätsergebnisse immunzytologischer Untersuchungen in der Gruppe der CIN 2+ (2013-2019)**, *gemittelt und bestimmt aus den Ergebnissen der unterschiedenen Gruppen von LSIL (*low grade squamous intraepithelial lesions*) und ASCUS (*atypical squamous cells of undetermined significance*)

Insgesamt lässt sich die Datenlage unserer Studie in Konklusion der Literatur der letzten Jahre einordnen. Es zeigt sich, dass CINtec Plus als immunzytochemische Zusatzmethode durchaus seine Berechtigung hat und zur Identifizierung kranker Patientinnen beitragen kann. Als einzelne Methode, gerade in der kritisch diskutierten Gruppe der CIN 2, ist sie zu hinterfragen, was sich an den oben gezeigten Schwankungsbreiten der Sensitivität und Spezifität deutlich zeigt.

Eine Studie von Wentzensen et al. (2015) untersuchte ähnlich unserer Studie den klinischen Einsatz der Methode. Bei allen der 703 Teilnehmerinnen wurde der zytologische Abstrich um eine p16/Ki-67-Doppelfärbung ergänzt. Dabei wurden insgesamt knapp 32% als positiv diagnostiziert, wobei nur knapp 6% (41 Fälle) tatsächlich eine CIN 2+ waren. Andersherum wurde bei Betrachten der Gruppe der CIN 2+ in knapp 71% eine positive Doppelfärbung erkannt. Bei 235 Patientinnen erfolgte nach weiterer Abstrichdiagnostik sowie HPV-Testung, die jeweils negativ ausfielen, eine immunzytochemische Untersuchung, die in 20% der Fälle positiv ausfiel [87]. Auch hier zeigt sich, dass die p16/Ki-67-Doppelfärbungsmethode in Zweifelsfällen durchaus ihre Berechtigung hat, als Einzelmethode aber aufgrund häufiger falsch-positiver Diagnosen kritisch zu betrachten ist.

Im Rahmen einer Co-Testung in klinischen Fragestellungen zeigt sie entsprechendes Potenzial zur Verbesserung der Diagnostik. Die berechtigte Gewichtung der zytologischen Abstrichmethode im Screeningverfahren kann so sinnvoll ergänzt werden

und im Hinblick auf diskutierte Fehlerquellen, wie z.B. Abnahme- oder Interpretationsfehler des Zytologen, Klarheit schaffen. Diese Art von Fehler können nicht gänzlich vermieden, aber deutlich reduziert werden [88].

4.2.3 DNA-Bildzytometrie und CINtec Plus: Stellenwert und Perspektive der adjuvanten Methoden in der Schwangerschaftsvorsorge

Bei Zusammenfassen beider untersuchten Methoden als eine – je nach Möglichkeit des Abstrichmaterials – zeigt sich keine wesentliche Unterscheidung in den Trends als bei der Betrachtung beider Methoden als einzelne. Insgesamt lässt sich sagen, dass die Detektionsrate sowohl mit höherem zytologischen als auch histologischen Befundungsgrad steigt. So liegt diese bei Gruppen, die zytologisch geringer als \leq Pap IIID bewertet wurden, bei knapp 50% bzw. histologisch \leq CIN 1/2, bei knapp 58% und steigt mit höherem Grad der Läsion.

Den Zusammenhang zeigt Tabelle 28 für die Zytologie ($p < 0,0001$). Von 80 histologisch gesicherten Fällen konnten 70 mit einer dieser ergänzt werden, sodass sich in 78,6% (55/70) der Fälle, die \geq Pap IIID diagnostiziert wurden, als auffällig zeigten und liegt damit zwischen den Detektionsquoten der einzeln untersuchten DNA-Bildzytometrie (80,4%, 45/56) und CINtec Plus-Methode (70,6%, 24/34).

In histologischer Korrelation (Tabelle 29) zeigt sich ein ähnlicher Trend. Auch hier steigt die Detektionsrate mit dem Grad der Läsion. Betrachtet man die Fälle der Gruppe \geq CIN 1/2, so steigt die oben genannte Rate von knapp 58% auf 83,3% (50/60) und liegt damit auch zwischen denen der einzeln betrachteten DNA-Bildzytometrie (85,1%, 40/47) und CINtec Plus-Methode (73,3%, 22/30).

Als unauffällig geltende Biopsien zeigten sich mit einer immunzytochemisch positiven Antwort 50% der Fälle, was den Eindruck der diskutierten Einzelmethode oben bestätigt – die adjuvanten Methoden scheinen mit der hohen Quote falsch-positiver Ergebnisse als Singlemethode kein geeignetes Mittel der Wahl zu sein, können aber in einzelnen Fällen, z.B. im Zweifel oder zur Bestätigung höhergradiger Läsionen, hinzugezogen und gezielt eingesetzt werden. Die Methoden sind also ergänzend zu verstehen und nicht konkurrierend. Gerade die diskutierten technischen und personell bedingten Fehlerquellen können in spezialisierten Kompetenzzentren weiter reduziert werden, um Inzidenz, sowie Diagnose- und Therapiemanagement weiter zu optimieren. An dieser Stelle sei zu beachten, dass der größte Risikofaktor für die Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs das *lost to follow up* ist, also das unregelmäßige bis gar nicht wahrgenommene Screening im Rahmen der Vorsorgemöglichkeiten. So zählt das

Zervixkarzinom in vielen Entwicklungsländern immer noch zu den häufigsten tödlich verlaufenden Krebserkrankungen. Eine Studie von Marquardt et al. (2016) untersuchte anhand von insgesamt 985 vollständig dokumentierten Fällen mit diagnostiziertem Zervixkarzinom in einem 10-Jahres-Intervall (2004-2013) u.a. die Korrelation zwischen Screeningteilnahme und Tumorstadium [89]. Bei 573 Patientinnen (58,2%) wurde in den letzten 5 Jahren keine zytologischen Kontrollen vorgenommen, bei 312 Patientinnen (31,7%) mindestens eine. 100 Patientinnen (10%) erkrankten trotz jährlicher Routineuntersuchung. Bei regelmäßigem und unregelmäßigem Screening wurde in jeweils 2% der Fälle ein T4-Stadium diagnostiziert, in der Gruppe der Patientinnen ohne zytologische Untersuchung lag die Rate höher mit 16,2%. Andersherum lag die Detektionsrate mikroinvasiver Karzinome (T1a1/2) bei regelmäßigem Screening deutlich höher (53,0%) im Vergleich zur Gruppe ohne zytologische Kontrollen in den letzten 5 Jahren (14,7%).

Dieser Fakt, sowie wissenschaftliche Studienerkenntnisse liegen u.a. der ständigen nationalen und internationalen Kontroverse über die Gebärmutterhalskrebsvorsorge zugrunde. Der Nachweis einer Aneuploidie indiziert in jedem Fall den chirurgischen Eingriff mit (erneuter) histologischer Abklärung. Trotz aller Vorteile der Methoden muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass es sich nach Stand heute um Minderheitenmethoden handelt, die sich u.a. auch hier in Deutschland nur in wenigen Instituten etabliert haben. Epidemiologisch ist bekannt, dass die Inzidenz geografischer Varianz unterliegt und sich invers zum *Human Development Index* (HDI) verhält [90]. So spielen neben Entwicklungsstand, Durchschnittseinkommen und Bildung auch der methodische und computerbasierte technische Aufwand eine Rolle, weshalb nach WHO (*World Health Organization*) neben der Pap-Testung mit guter Spezifität die HPV-Testung mit einer Sensitivität von 94% sinniger erscheint. Im Gegensatz zu den hier diskutierten adjuvanten Methoden ist diese weniger anfällig aufgrund subjektiver Kenntnisse [80].

In einer aktuellen Studie von Wentzensen et al. (2021) wurde hinter der Kritik an der visuellen und damit subjektiv befangenen Interpretation innerhalb der Gebärmutterhalskrebsvorsorge ein möglicher Automatisierungsprozess untersucht. Mit Hilfe eines *cloud*-basierten Bildgebungsverfahren für p16/Ki-67 doppelt gefärbte Objektträger wurden entsprechende Ergebnisse mit denen konventioneller Pap-Abstriche und manueller p16/Ki-67-Doppelfärbungen (DS, *dual stain*) aus drei epidemiologischen Studien über zervikale und anale Präkanzerosen von insgesamt 4253 HPV-positiver Patientinnen verglichen. Es zeigte sich bei ähnlicher Sensitivität von 88,1% (im Vergleich

zur Zytologie mit 85,5% und manueller DS mit 90,0%) eine deutlich höhere Spezifität von 61,5% (im Vergleich zur Zytologie mit 41,9% und manueller DS mit 52,6%). In der Praxis bedeutete dies im Vergleich zur Zytologie die Reduktion von angewiesenen Kolposkopien von 60,1% auf 41,9% mittels *cloud*-basierter Immunzytochemie [91].

Die künstliche Intelligenz eröffnet der international geführten Kontroverse dadurch neue Ansätze zur Objektivierung der Diagnostik und folglich der Therapiemöglichkeiten. Durch die globale Zugänglichkeit *cloud*-basierter Verfahren ließen sich etablierte HPV-basierte Screeningprogramme neu diskutieren, die laut WHO als Sondermethode in ärmeren Teilen der Welt aufgrund übersichtlicher Laborgestaltung mit PCR-Zyklern einfacher zu etablieren seien als die in unserer Studie untersuchten. Zudem wird sie trotz schlechterer Spezifität teilweise als Singlemethode, wie z.B. in den Niederlanden, eingesetzt, was das Risiko eines Karzinoms im 3-Jahresintervall mit sich bringt (sogenannte „Intervallkarzinome“), sowie unnötige Abklärungen und Therapien zur Folge haben kann. Auch in Deutschland hat die HPV-Testung seit der Reform vom 01.01.2020 in der gynäkologischen Vorsorge deutlich an Gewichtung gewonnen.

Die Möglichkeiten der künstlichen Intelligenz können in der Gebärmutterhalskrebsvorsorge neben bzw. in etablierten Dysplasiesprechstunden durchaus weisend sein, um die epidemiologische Entwicklung positiv zu beeinflussen. Wentzensen et al. bieten entsprechende Ansätze für zukunftsorientierte Studien in die Richtung der hier untersuchten adjuvanten Methoden. Gerade auch im Hinblick auf die DNA-Bildzytometrie, bei der es sich ebenfalls um ein computerbasiertes Verfahren handelt, könnten entsprechende Datensätze zugänglich und Auswertungen global und schnell verfügbar gemacht werden.

Auf nationaler Ebene sollen Datensätze im Rahmen der neuen Reform vom 01.01.2020 zur gynäkologischen Krebsvorsorge gesammelt und jährlich ausgewertet werden, die demnach zukünftig ebenfalls in einer möglichen digitalen Datenbank genutzt werden könnten.

Der Gemeinsame Bundesausschuss gab nach Bekanntgabe des neuen Screeningprogramms zur Früherkennung von Gebärmutterhalskrebs eine Dokumentationspflicht bekannt, die ab dem 01.10.2020 gilt und der Programmbeurteilung dient. Die entsprechenden Informationen werden durch Krankenkassen, den untersuchenden ÄrztInnen, sowie das Krebsregister gesammelt und an die Firma Nortal AG als Vertrauensstelle gegeben, um diese dann pseudonymisiert an die Auswertungsstelle

Gesundheitsforen Leipzig GmbH weiterzuleiten. Die gesammelten Daten sollen Aufschluss geben über die Qualität und Wirksamkeit der neuen Regelungen, um diese langfristig zu überwachen und ggf. zu verbessern. Eine entsprechende Evaluation soll alle zwei Jahre erfolgen und veröffentlicht werden.

Auf Nachfrage beim Gemeinsamen Bundesausschuss (Emailverkehr vom 01.06.2022, Ulrike Reiner, Stabsabteilung Öffentlichkeitsarbeit und Kommunikation GBA Berlin) und den Gesundheitsforen Leipzig GmbH (Rückruf nach interner Klärung vom 19.05.2022, Maria Herberg, Projektmanagerin Medizin und Versorgung) gibt es bis dato allerdings noch keine Evaluationsveröffentlichung. Aufgrund pandemischer Gegebenheiten verzögerte sich der Informationsfluss, sowie die erste Veröffentlichung des Evaluationsberichts von 2021. Zum jetzigen Zeitpunkt können daher keine Ergebnisse oder gar Rückschlüsse zur Datenlage seit Beginn der Neuregelung bzw. Dokumentationspflicht gegeben werden. Diese werden aber bereits intern evaluiert, sodass für 2021 nach aktuellen Erkenntnissen zum Ende des Jahres eine Auswertung erwartet wird. Ob Einzelheiten zu Forschungs- und Studienzwecken öffentlich freigegeben werden, wird aktuell auf politischer Ebene diskutiert. Zur weiteren Verarbeitung, auch im Rahmen nationaler Studien und zukünftiger Dissertationen zum Thema, wäre dies zu wünschen und könnte weiteren wertvollen Input zur Verbesserung von Qualität und Wirksamkeit des Therapiemanagements geben.

5 Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ (2003) Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *The New England Journal of Medicine* 348:518-527
- [2] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of Pathology* 189:12-19
- [3] Robert Koch-Institut (2014) *Epidemiologisches Bulletin* 35 / 2014:341-347
- [4] Weyerstahl T, Stauber M (2013) *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Thieme Verlag: Stuttgart, 234-236
- [5] Kraywinkel K, Bertz J, Laudi A, Wolf U (2012) *Epidemiologie und Früherkennung häufiger Krebserkrankungen in Deutschland*. Robert Koch-Institut Berlin, GBE kompakt 3(4)
- [6] Kerek-Bodden H, Altenhofen L, Brenner G (2009) Durchführung einer versichertenbezogenen Untersuchung zur Inanspruchnahme der Früherkennung auf Zervixkarzinom in den Jahren 2002–2004, Abschlussbericht Zentralinstitut für die Kassenärztliche Versorgung in Deutschland, Wissenschaftliche Reihe, Band 62. Deutscher Ärzteverlag: Köln
- [7] Robert Koch-Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2019) *Krebs in Deutschland 2015/2016*
- [8] Robert Koch-Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2021) *Krebs in Deutschland für 2017/2018*
- [9] Papanicolaou GN (1928) New Cancer Diagnosis. The Third Race Betterment Conference, Battle Creek, Michigan 528-534
- [10] Nauth HF (2013) *Gynäkologische Zytodiagnostik*. Thieme Verlag: Stuttgart, 186-188
- [11] Griesser H, Marquardt K, Jordan B, Schenck U, Neis K, Kühn W, Neumann HH, Steiner M, Bollmann R, Pöschel B (2013) *Münchener Nomenklatur III für die gynäkologische Zytodiagnostik der Zervix*. *Frauenarzt* 54:1042-1048
- [12] Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und Entbindung (2022) (Zugriff vom 24.02.2023). https://www.g-ba.de/downloads/62-492-2676/Mu-RL_2021-09-16_iK-2022-01-01.pdf
- [13] Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme (2023) (Zugriff vom 24.02.2023). <https://www.g-ba.de/downloads/62-492-3039/oKFE-RL-2022-11-17-iK-2023-01-26.pdf>

- [14] McCrory DC, Matchar DB, Bastian L, Datta S, Hasselblad V, Hickey J, Myers E, Nanda K (1999) Evaluation of cervical cytology. Evidence Reports/Technology Assessments 5:1-6
- [15] Soost H-J (1987) Ergebnisse zytologischer Krebsfrüherkennungs- und Vorsorgeuntersuchungen bei der Frau – eine 10-Jahres Studie. Deutscher Ärzteverlag: Köln
- [16] Schneider A, Hoyer H, Lotz B, Leistrizta S, Kuhne-Heid R, Nindl I, Müller B, Haerting J, Durst M (2000) Screening for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia and cancer by testing for high-risk HPV, routine cytology or colposcopy. International Journal of Cancer 89:529-534
- [17] Petry KU, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, Schopp B, Garbrecht-Buettner S, Davies P, Boehmer G, van den Akker E, Iftner T (2003) Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. British Journal of Cancer 88:1570-1577
- [18] Leodolter S (2011) Der jährliche Pap ist nicht zu ersetzen – Zukunft des zytologischen Screenings. Gyn-Aktiv 5
- [19] Brandi L (2017) Management, Diagnostik und Therapie von pathologischen Gebärmutterhalsabstrichen in der Schwangerschaft und ihr postpartaler Verlauf. Med. Diss. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [20] Ostör AG (1993) Natural-History of Cervical Intraepithelial Neoplasia - a Critical-Review. International Journal of Gynecological Pathology 12:186-192
- [21] Mailath-Pokorny M, Schwameis R, Grimm C, Reinthaller A, Polterauer S (2016) Natural history of cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: postpartum histo-pathologic outcome and review of the literature. BMC Pregnancy Childbirth 16
- [22] Serati M, Uccella S, Laterza RM, Salvatore S, Beretta P, Riva C, Bolis PF (2008) Natural history of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy. Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica 87:1296-1300
- [23] Evans AS, Monaghan JM (1987) The nuclear DNA content of vulvar skin using Feulgen microspectrophotometry and "four-quarter" analysis. Analytical and Quantitative Cytology and Histology 9:239-242
- [24] Nasiell K, Auer G, Nasiell M, Zetterberg A (1979) Retrospective DNA analyses in cervical dysplasia as related to neoplastic progression or regression. Analytical and Quantitative Cytology and Histology 1:103-106
- [25] Chatelain R, Schunck T, Schindler EM, Schindler AE, Böcking A (1989) Diagnosis of prospective malignancy in koilocytic dysplasias of the cervix with DNA cytometry. The Journal of Reproductive Medicine 34:505-510
- [26] Biesterfeld S, Reus K, Bayer-Pietsch E, Mihalcea AM, Böcking A (2001) DNA image cytometry in the differential diagnosis of endocervical adenocarcinoma. Cancer 93:160-164

- [27] Biesterfeld S, Leitloff M, Rath W, Schroder W (2001) DNA image cytometry in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology* 23:123-128
- [28] Schumann G (2014) Klinische Follow-Up-Studie von Zervixabstrichen mit der zytologischen Diagnose der Gruppe III. Med. Diss. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [29] Grote HJ, Nguyen HV, Leick AG, Böcking A (2004) Identification of progressive cervical epithelial cell abnormalities using DNA image cytometry. *Cancer* 102:373-379
- [30] Böcking A, Chen J, Friedrich D, Meyer-Ebrecht D (2015) Computer-unterstützte Erkennung von Krebszellen mittels DNA-Karyometrie. *Trillium Krebsmedizin, Zeitschrift für interdisziplinäre Onkologie & Hämatologie* 24:208-211
- [31] Feider A (2018) Erprobung eines automatisierten DNA-zytometrischen Messsystems an luftgetrockneten Ergusspräparaten. Med.Diss. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [32] Rezaie M (2018) Erprobung der automatisierten DNA-Bildzytometrie am Prostatakarzinom. Med. Diss. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [33] Dogan T (2023) Erprobung eines automatischen DNA-bildzytometrischen Messsystems an Schilddrüsenpunktaten, Med. Diss. Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf (Disputation noch ausstehend)
- [34] Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R (2011) p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathology* 119:158-166
- [35] Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, Bogers J, Dachez R, Denton K, Hariri J, Keller T, von Knebel Doeberitz M et al. (2013) Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *Journal of the National Cancer Institute* 105:1550-1557
- [36] Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J (2012) Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine* 30:F88-F99
- [37] Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T (2006) Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *International Journal of Cancer* 119:1095-1101
- [38] AWMF online: Interdisziplinäre S2k-Leitlinie für Prävention, Diagnostik und Therapie der HPV-Infektion und präinvasiver Läsionen des weiblichen Genitale (2008) (Zugriff vom 24.02.2023).
https://www.aq-cpc.de/wp-content/uploads/2018/07/015-027_S2_IDA_Praevention_Diagnostik_und_Therapie_der_HPV-Infektion_und_praeinvasierer_Laesionen_des_weiblichen_Genitale_06-2008_09-2012.pdf

- [39] Wentzensen N (2011) Molekulare Diagnostik der HPV-Infektion. *Pathologie* 32:461-466
- [40] Deutsches Krebsforschungszentrum: Humane Papillomviren (HPV) als Krebs-Auslöser (Zugriff vom 04.01.2023). <https://www.krebsinformationsdienst.de/vorbereitung/risiken/hpv2.php>
- [41] Kühn W, Gieseck F (2015) Die aktuellen Empfehlungen der AG-CPC zur Kolposkopie. *Gyn* 20:25-47
- [42] Lellé RJ, Küppers V (2014) *Kolposkopie in der Praxis*. Springer Verlag: Berlin Heidelberg, 15-17
- [43] Kaufmann M, Costa S, Scharl A (2013) *Die Gynäkologie*. Springer Verlag: Berlin Heidelberg, 360,590,940
- [44] Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R (1998) Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstetrics & Gynecology* 91:626-631
- [45] Scheungraber C (2015) Management von Dysplasien in der Schwangerschaft. *Gyn* 20:67-69
- [46] Xavier-Junior JC, Vale DB, Vieira LF, Lima MT, Zeferino LC, Duflath RM (2015) Results of screening for cervical cancer among pregnant and non-pregnant women in Brazil. *International Journal Gynecology & Obstetrics* 130:36-39
- [47] Hopkins MP, Morley GW (1992) The prognosis and management of cervical cancer associated with pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* 80:9-13
- [48] Goncalves C, Duarte G, Marcolin A, Dias D, Costa J, Bianchi M, Lima L (2009) Diagnosis and treatment of cervical cancer during pregnancy. *Sao Paulo Medical Journal* 127:359-365
- [49] Ackermann S, Gehrsitz C, Mehlhorn G, Beckmann MW (2006) Management and course of histologically verified cervical carcinoma in situ during pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 85:1134-1137
- [50] Fader AN, Alward EK, Niederhauser A, Chirico C, Lesnock JL, Zwiesler DJ, Guido RS, Lofgren DJ, Gold MA, Moore KN (2010) Cervical dysplasia in pregnancy: a multi-institutional evaluation. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 203:113.e111-e116
- [51] Fleury AC, Birsner ML, Fader AN (2012) Management of the abnormal Papanicolaou smear and colposcopy in pregnancy: an evidenced-based review. *Minerva Ginecologica* 64:137-148
- [52] Feulgen R, Rossenbeck H (1924) Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nukleinsäure vom Typus der Thymonukleinsäure und die darauf beruhende Elektiv-Färbung von Zellkern in mikroskopischen Präparaten. *Physiology Chemistry* 135:203-245
- [53] Rathert R, Roth S, Böcking A (1991) *Urinzytologie Praxis und Atlas*. Springer Verlag: Berlin Heidelberg, 152

- [54] Giroud F, Haroske G, Reith A, Bocking A (1998) 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part II: Specific recommendations for quality assurance. *Analytical Cellular Pathology* 17:201-208
- [55] Cerroni L, Garbe C, Metze D (2016) *Histopathologie der Haut*. Springer Verlag: Berlin, 16-17
- [56] Vereinbarung von Qualitätssicherungsmaßnahmen nach § 135 Abs. 2 SGB V zur zytologischen Untersuchung von Abstrichen der Cervix uteri (2020) (Zugriff vom 24.02.2023). <https://www.kbv.de/media/sp/Zervix-Zytologie.pdf>
- [57] Dixon D (1981) BMDP statistical software, Department of biomathematics, University of California, Los Angeles. University of California Press
- [58] Roth G, Vahrson H, Lang U (2004) Zervixkarzinom in der Schwangerschaft. *Der Gynäkologe* 6:507-513
- [59] Chen C, Xu Y, Huang W, Du Y, Hu C (2021) Natural history of histologically confirmed high-grade cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy: meta-analysis. *BMJ Open* 11
- [60] Griesser H, Marquardt K, Jordan B, Küppers V, Giesecking F, Kühn W (2015) Das Prozedere bei auffälligen Befunden - Kommentar zur Münchener Nomenklatur III. *Frauenarzt* 56:10-13
- [61] Paraskevaidis E, Koliopoulos G, Kalantaridou S, Pappa L, Navrozoglou I, Zikopoulos K, Lolis DE (2002) Management and evolution of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum. *European Journal Obstetrics, Gynecology & Reproductive Biology* 104:67-69
- [62] Grimm D, Lang I, Prieske K, Jaeger A, Müller V, Kuerti S, Burandt E, Lezius S, Schmalfeldt B, Woelber L (2020) Course of cervical intraepithelial neoplasia diagnosed during pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 301:1503-1512
- [63] Motamedi M, Böhmer G, Neumann HH, von Wasielewski R (2015) CIN III lesions and regression: retrospective analysis of 635 cases. *BMC Infectious Diseases* 15:541
- [64] Zhang J, Lu CX (2019) Spontaneous Regression of Cervical Intraepithelial Neoplasia 2: a Meta-analysis. *Gynecologic & Obstetric Investigation* 84:562-567
- [65] Tainio K, Athanasiou A, Tikkinen KAO, Aaltonen R, Cárdenas J, Hernández, Glazer-Livson S, Jakobsson M, Joronen K, Kiviharju M, Louvanto K, Oksjoki S et al. (2018) Clinical course of untreated cervical intraepithelial neoplasia grade 2 under active surveillance: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 360
- [66] Schweizerischer Krebsbericht 2021 (2021) (Zugriff vom 24.02.2023). <https://www.nkrs.ch/assets/files/publications/Krebsbericht2021/1177-2100-de.pdf>
- [67] Schädel D, Coumbos A, Willrodt RG, Roggan A, Jochum T, Müller G, Albrecht H, Kühn W (2004) Digitale Kolposkopie bei Läsionen der Cervix uteri - eine Pilotstudie unter Berücksichtigung telematischer Fragestellungen. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 64:1205-1212

- [68] Müller M (2015) Korrelation histologischer und zytologischer Befunde in der Gebärmutterhalskrebsdiagnostik. Med. Diss. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [69] Lowy DR, Schiller JT (2006) Prophylactic human papillomavirus vaccines. *Journal of Clinical Investigation* 116:1167-1173
- [70] Dalla Palma P, Giorgi Rossi P, Collina G, Buccoliero AM, Ghiringhello B, Gilioli E, Onnis GL, Aldovini D, Galanti G, Casadei G, Aldi M, Gomes VV et al. (2009) The reproducibility of CIN diagnoses among different pathologists: data from histology reviews from a multicenter randomized study. *American Journal of Clinical Pathology* 132:125-132
- [71] Carreon JD, Sherman ME, Guillén D, Solomon D, Herrero R, Jerónimo J, Wacholder S, Rodríguez AC, Morales J, Hutchinson M, Burk RD, Schiffman M (2007) CIN2 is a much less reproducible and less valid diagnosis than CIN3: results from a histological review of population-based cervical samples. *International Journal of Gynecological Pathology* 26:441-446
- [72] Stoler MH, Schiffman M (2001) Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *Journal of the American Medical Association* 285:1500-1505
- [73] Ceballos KM, Chapman W, Daya D, Julian JA, Lytwyn A, McLachlin CM, Elit L (2008) Reproducibility of the histological diagnosis of cervical dysplasia among pathologists from 4 continents. *International Journal of Gynecological Pathology* 27:101-107
- [74] Henning U, Hinrichs F, Witting C, Lellé R (2002) Der verdächtige Abstrich in der Schwangerschaft: Ein Konzept für ein weiteres Vorgehen. *Deutsches Ärzteblatt* 99:A2047-2051
- [75] Böcking A (2003) Der verdächtige Abstrich in der Schwangerschaft: DNA-Bildzytometrie einsetzen. *Deutsches Ärzteblatt* 100:A200
- [76] Bollmann R, Böcking A (1996) Prognostische Validität der DNA-Bildzytometrie bei Dysplasien in Gebärmutterhalsabstrichen. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie* 80:577
- [77] Kashyap V, Das DK, Luthra UK (1990) Microphotometric nuclear DNA analysis in cervical dysplasia of the uterine cervix: its relation to the progression to malignancy and regression to normalcy. *Neoplasma* 37:497-500
- [78] Nenning H, Horn LC, Kühndel K, Bilek K (1995) False positive cervical smears: a cytometric and histological study. *Analytical Cellular Pathology* 9:61-68
- [79] Wright T, Kurmann R, Ferency A (1994) Precancerous lesions of the uterine cervix. In: Blaustein's pathology of the female genital tract. Springer Verlag: New York, 229-277
- [80] Ghisu GP (2021) Stellenwert des Pap-tests im Zeitalter der HPV-Testung. *Therapeutische Umschau* 78:93-98

- [81] Prigenzi KCK, Heinke T, Salim RC, Focchi GRA (2018) Dual p16 and Ki-67 Expression in Liquid-Based Cervical Cytological Samples compared to Pap Cytology Findings, Biopsies, and HPV Testing in Cervical Cancer Screening: a diagnostic accuracy Study. *Acta Cytologica* 62:104-114
- [82] Killeen JL, Dye T, Grace C, Hiraoka M (2014) Improved abnormal Pap smear triage using cervical cancer biomarkers. *Journal of Lower Genital Tract Disease* 18:1-7
- [83] Zappacosta R, Caraceni D, Ciccocioppo L, Rotondo T, Capanna S, Gatta DMP, D'Angelo C, Rosini SJGo (2012) Implementing specificity of HPV-DNA primary screening in a successful organised cervical cancer prevention programme. *Gynecologic Oncology* 128:427-432
- [84] Waldstrøm M, Christensen RK, Ørnskov D (2013) Evaluation of p16(INK4a)/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Cytopathology* 121:136-145
- [85] Wright TC, Jr., Behrens CM, Ranger-Moore J, Rehm S, Sharma A, Stoler MH, Ridder R (2017) Triage of HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecologic Oncology* 144:51-56
- [86] Peeters E, Wentzensen N, Bergeron C, Arbyn M (2019) Meta-analysis of the accuracy of p16 or p16/Ki-67 immunocytochemistry versus HPV testing for the detection of CIN2+/CIN3+ in triage of women with minor abnormal cytology. *Cancer Cytopathology* 127:169-180
- [87] Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, Schiffman M, Wood SN, Stiemerling E, Tokugawa D, Bodelon C, Poitras N, Lorey T, Kinney W (2015) p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *Journal of the National Cancer Institute* 107
- [88] Marquardt K (2011) Zervixzytologie: Der repräsentative Abstrich. *Frauenarzt* 52:484-488
- [89] Marquardt K, Stubbe M, Broschewitz U (2016) Zervixkarzinome in Mecklenburg-Vorpommern - Tumorstadium, histologischer Tumortyp, Alter und Screeningteilnahme von 985 Patientinnen. *Pathologie* 37:78-83
- [90] Wentzensen N (2016) Epidemiologie, Prävention und Früherkennung des Zervixkarzinoms. *Der Onkologe* 22:725-736
- [91] Wentzensen N, Lahrmann B, Clarke MA, Kinney W, Tokugawa D, Poitras N, Locke A, Bartels L, Krauthoff A, Walker J, Zuna R, Grewal KK et al. (2021) Accuracy and Efficiency of Deep-Learning-Based Automation of Dual Stain Cytology in Cervical Cancer Screening. *Journal of the National Cancer Institute* 113:72-79

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater und ehemaligen Leiter des Instituts für Cytopathologie Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld für die jahrelange Zusammenarbeit und Betreuung und für den Optimismus bis zum Schluss.

Weiterer Dank geht an Prof. Dr. med. Günter Niegisch für seine Gutachtertätigkeit.

Ich danke Dr. med. Martin Schramm für die Kontrolle meiner Befundungen und für die ermutigenden Worte im richtigen Moment.

Ich danke dem gesamten Team des Instituts der Cytopathologie der Uniklinik Düsseldorf für die immer freundliche Unterstützung bei meiner praktischen Labortätigkeit sowie Kontrolle der Messungen.

Ein besonderer Dank gilt Bruno. Deine Motivation war beispiellos und bleibt unvergessen.

Ich danke meinem Vater für all die offenen Wege und meiner Mutter für die Unterstützung auf diesen. Danke für das Vertrauen und das Verständnis und den Mut, dir unbekannte Wege mit uns zu gehen - als Analphabetin gilt dir alle Ehre dieser Schrift.

Ein besonderer Dank gilt meinem Mann Nabil für seine unermüdliche Geduld mit mir. Ohne dich hätte ich niemals die Ruhe und den Rahmen gehabt.

Ich danke meiner Tochter Hedda Sophia, die mich bereits im Mutterleib lehrte, dass Kinder keine Last sind, sondern der größte Antrieb für eigene Träume und Ziele. Du bist so viel größer als ich. Gleiches gilt dir, Hava Luisa, für gefühlt so viel Geduld bereits in deinen jüngsten Tagen.

An vorletzter Stelle danke ich mir selbst.