

Aus dem
Department für Frauengesundheit Tübingen
Universitäts-Frauenklinik

**Gewebeerhaltende Behandlung mit nicht-invasivem
physikalischem Plasma bei intraepithelialen Neoplasien des
Gebärmutterhalses**
– eine prospektive kontrollierte klinische Studie –

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hahn, Anna geb. Hißnauer

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Weiß

2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Amend

Tag der Disputation: 15.05.2025

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie	2
1.2	Das organisierte Zervixkarzinomscreening	5
1.3	Anatomische Grundlagen	8
1.4	Humane Papillomaviren als Hauptrisikofaktor	10
1.5	Diagnostik der CIN	15
1.6	Therapie der CIN	25
1.7	Neue Therapieoption: nicht-invasives physikalisches Plasma	28
2	Ziele der Arbeit	34
3	Material und Methoden	35
3.1	Ethikvotum und Finanzierung	36
3.2	Patientenkollektiv	36
3.3	Studienablauf	37
3.4	Materialien und Untersuchungsmethoden	41
3.5	Fragebogen.....	43
3.6	Klinische Endpunkte	43
3.7	Datenerfassung.....	44
3.8	Statistik	44
4	Ergebnisse	45
4.1	Teilnahme an den Studienvisiten innerhalb der NIPP-Gruppe.....	47
4.2	Patientenkollektiv	48
4.3	Histologische Bewertung der Remissionsraten	54
4.4	Zytologische Beurteilung der NIPP-Wirksamkeit	62
4.5	Kolposkopische Beurteilung der NIPP-Wirksamkeit	72
4.6	Virologische Ergebnisse nach NIPP-Behandlung	77
4.7	Erforderliche Interventionen während des Studienverlaufs.....	80
4.8	Nachuntersuchungen der LLETZ-Exzisionspräparate.....	82
4.9	Bewertung des Patientenkomforts	88
5	Diskussion	100

6	Zusammenfassung.....	130
7	Summary	132
8	Literaturverzeichnis.....	X
9	Erklärung zum Eigenanteil.....	XXVII
10	Veröffentlichungen.....	XXVIII
11	Danksagung	XXIX

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lokalisationen der Transformationszone im Vergleich _____	8
Abbildung 2: Die vier Aggregatzustände _____	29
Abbildung 3: Bestandteile nicht-invasiven physikalischen Plasmas _____	32
Abbildung 4: Flussdiagramm zum Studiendesign _____	38
Abbildung 5: CONSERT Flussdiagramm der NIPP-Gruppe _____	45
Abbildung 6: CONSERT-Flussdiagramm der Kontrollgruppe _____	46
Abbildung 7: Vergleich der histologischen Ausgangsbefunde von NIPP- und Kontrollgruppe _____	54
Abbildung 8: HE-Färbung einer CIN1 in 200-facher Vergrößerung _____	83
Abbildung 9: HE-Färbung einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung _____	84
Abbildung 10: Immunhistochemische p16 ^{INK4a} -Färbung einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung _____	85
Abbildung 11: HE-Färbung einer CIN3 in 100-facher Vergrößerung _____	86
Abbildung 12: Immunhistochemische p16 ^{INK4a} -Färbung einer CIN3 in 200-facher Vergrößerung _____	87
Abbildung 13: Übersicht über das subjektive Schmerzerleben der Patientinnen im Rahmen der NIPP-Behandlung _____	89

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die primären und sekundären Endpunkte der vorliegenden Studie _____	44
Tabelle 2: Teilnahme an den Nachuntersuchungsterminen innerhalb der NIPP-Gruppe	47
Tabelle 3: Altersverteilung innerhalb NIPP- und Kontrollgruppe vor Studienbeginn _	48
Tabelle 4: Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen sortiert nach Altersgruppen _	49
Tabelle 5: Erfasste Graviditäten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn ____	50
Tabelle 6: Anzahl bisheriger Graviditäten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn _____	51
Tabelle 7: Erfasste Geburten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn _____	51
Tabelle 8: Anzahl der Geburten vor Studienbeginn _____	52
Tabelle 9: Dauer des beobachteten auffälligen PAP-Abstrichs _____	52
Tabelle 10: Bisherige Interventionen aufgrund auffälliger zytologischer oder histologischer Befunde innerhalb der NIPP-Gruppe _____	53
Tabelle 11: Histologische Befunde nach 3 Monaten _____	55
Tabelle 12: Histologische Veränderungen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangswert _____	56
Tabelle 13: Histologische Befunde nach 6 Monaten im Vergleich zum Ausgangswert unter Berücksichtigung erfolgter Interventionen _____	57
Tabelle 14: Histologische Veränderungen nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangswert unter Berücksichtigung erfolgter Interventionen _____	58
Tabelle 15: Vergleich der histologischen Verläufe zwischen NIPP-Gruppe, Kontrollgruppe und Literaturwerten _____	61
Tabelle 16: Zytologische Ausgangsbefunde _____	62
Tabelle 17: Zytologische Ausgangsbefunde in Kategorien _____	63
Tabelle 18: Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen _____	64
Tabelle 19: Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen in Kategorien	64
Tabelle 20: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach zwei bis drei Wochen im Vergleich zum Ausgangsbefund _____	65
Tabelle 21: Zytologische Befunde nach 3 Monaten _____	66
Tabelle 22: Zytologische Befunde nach 3 Monaten in Kategorien _____	67

Tabelle 23: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund _____	67
Tabelle 24: Zytologische Befunde nach sechs Monaten unter Berücksichtigung der Interventionen _____	69
Tabelle 25: Zytologische Befunde in Kategorien nach sechs Monaten unter Berücksichtigung der Interventionen _____	70
Tabelle 26: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund _____	70
Tabelle 27: Ausgangslokalisierung der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe _____	72
Tabelle 28: Lokalisation der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen _____	73
Tabelle 29: Veränderungen der Lokalisation der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen _____	73
Tabelle 30: Lokalisation der Transformationszone der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten	74
Tabelle 31: Verlagerungen der Transformationszone nach 3 Monaten im Vergleich zum Ausgangszeitpunkt _____	74
Tabelle 32: Lokalisation der Transformationszone der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten	75
Tabelle 33: Verlagerung der Transformationszone nach 6 Monaten im Vergleich zur Ausgangslokalisierung _____	75
Tabelle 34: Virologische Befunde vor NIPP-Behandlung _____	77
Tabelle 35: Virologische Befunde sechs Monate nach NIPP-Behandlung _____	78
Tabelle 36: Virologische hrHPV-Befundveränderungen nach sechs Monaten _____	78
Tabelle 37: Virologische lrHPV-Befundveränderungen nach sechs Monaten _____	79
Tabelle 38: Erfolgte Interventionen innerhalb des sechsmonatigen Beobachtungszeitraums _____	80
Tabelle 39: Art der gewählten Intervention _____	80
Tabelle 40: Vergleich der histologischen Ergebnisse aus Probenentnahme und LLETZ-Exzisionspräparat _____	82
Tabelle 41: Subjektive Schmerzeinschätzung der Patientinnen vor NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten:0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen)) _____	90

Tabelle 42: Subjektive Schmerzeinschätzung der Patientinnen vor NIPP-behandlung (kategorisiert) _____	90
Tabelle 43: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich während der NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen)) _____	91
Tabelle 44: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich während der NIPP-Behandlung (kategorisiert) _____	91
Tabelle 45: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich innerhalb der ersten vier Stunden nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen)) _____	92
Tabelle 46: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich innerhalb der ersten vier Stunden nach NIPP-Behandlung (kategorisiert) _____	92
Tabelle 47: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich zwei Tage nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen)) _____	93
Tabelle 48: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich zwei Tage nach NIPP-Behandlung (kategorisiert) _____	93
Tabelle 49: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich eine Woche nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen)) _____	94
Tabelle 50: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich eine Woche nach NIPP-Behandlung (kategorisiert) _____	94
Tabelle 51: Tabellarische Darstellung zum Auftreten von Nebenwirkungen _____	95
Tabelle 52: Anzahl der angegebenen Nebenwirkungen _____	95
Tabelle 53: Bewertung der Aussage, ob die Behandlung als wenig belastend empfunden wurde. _____	96
Tabelle 54: Bewertung der Aussage, ob sich die Patientinnen nach der Behandlung rasch erholt haben. _____	97
Tabelle 55: Bewertung der Aussage, ob die Behandlung aus Sicht der Patientinnen ein Erfolg war. _____	97
Tabelle 56: Bewertung der Aussage, ob die Patientinnen eine erneute Behandlung durchführen lassen würden _____	98

Tabelle 57: Abschließende Bewertung der NIPP-Behandlung durch die
Studienteilnehmerinnen _____ 98

Abkürzungsverzeichnis

5-FU.....	5-Fluorouracil
AG CPC.....	Arbeitsgemeinschaft Zervixpathologie und Kolposkopie
APC.....	Argon-Plasma-Koagulation
CC.....	invasives Zervixkarzinom
CIN.....	zervikale intraepitheliale Neoplasie
CK.....	Gebärmutterhals
DGGG.....	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
DHEA.....	Dehydroepiandrosteron
EMA.....	Europäische Arzneimittel-Agentur
FFPE.....	formalinfixierte, paraffineingebettete Biopsieproben
FIBS.....	Freiburger Index für Patientenzufriedenheit
G-BA.....	Gemeinsamer Bundesausschuss
GKV.....	gesetzliche Krankenversicherung
GM-CSF.....	Granulozyten-Monozyten-Kolonien-stimulierender Faktor
GPX.....	Glutathionperoxidase
HC2.....	Hybrid Capture II-Test
HDI.....	Human Development Index
HE-Färbung.....	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HPV.....	humane Papillomaviren
hrHPV.....	humane Papillomaviren der Hochrisikogruppe
HSIL.....	High Grade Squamous Intraepithelial Lesion
IARC.....	International Agency for Researsch on Cancer
IFCPC.....	The International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy
IL-6.....	Interleukin 6
LBC.....	Dünnschichtzytologie
LLETZ.....	Schlingenkonisation
lrHPV.....	humane Papillomaviren der Niedrigrisikogruppe
LSIL.....	Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion
MN III.....	Münchener Nomenklatur III
NIPP.....	nicht-invasives physikalisches Plasma
PAP.....	Befundung nach Papanicolaou
pRb.....	Retinoblastomprotein
RNS.....	reactive nitrogen species
RONS.....	reactive oxygen and nitrogen species
ROS.....	reactive oxygen species
SGB V.....	Sozialgesetzbuch Fünftes Buch
SOD.....	Superoxiddismutase
T1.....	Transformationszone Typ 1
T2.....	Transformationszone Typ 2
T3.....	Transformationszone Typ 3
TBS.....	Bethesda-System
TLR7.....	Toll-like-7-Rezeptor
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
T-Zone.....	Transformationszone
WHO.....	Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

Das invasive Zervixkarzinom (CC) stellt trotz bestehender Vorsorgeuntersuchungen weltweit die vierthäufigste Krebserkrankung und -todesursache bei Frauen dar (1). Im Vergleich zu anderen Tumorerkrankungen steigt die Inzidenzrate bereits ab dem 35. Lebensjahr deutlich an, sodass das mittlere Erkrankungsalter insgesamt circa 16 Jahre vor dem Krebsdurchschnitt liegt (2).

Jedoch bietet das CC im Gegensatz zu vielen anderen Tumorerkrankungen auch große Vorteile: Im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen ist es möglich, die Portio uteri makroskopisch zu beurteilen und somit unter Sicht gezielt Zellabstriche und Probenentnahmen durchzuführen. Durch das Wissen über sogenannte „Krebsvorstufen“ und den Zusammenhang mit humanen Papillomaviren (HPV) bietet das CC zahlreiche Diagnose- und Therapiemöglichkeiten noch bevor es zur eigentlichen Tumorerkrankung kommt.

Problematisch ist jedoch die daraus resultierende Übertherapie, denn nicht jede Dysplasie der Cervix uteri erfährt eine Progression zum invasiven Karzinom. Lediglich 10-20 Prozent der Patientinnen mit einer CIN3 entwickeln unbehandelt innerhalb von zehn Jahren ein Karzinom. Somit werden 80-90 Prozent der Betroffenen übertherapiert. Die heute verwendeten Exzisions- und Destruktionsmethoden sind bereits viele Jahre Bestandteil des klinischen Alltags. Allerdings sind diese Verfahren für die Patientinnen auch mit einer Narkose, Schmerzen und weiteren möglichen Risiken, wie beispielsweise einer erhöhten Frühgeburtlichkeit, verbunden. Jährlich werden in Deutschland etwa 60.000 Operationen am Muttermund aufgrund von zervikalen intraepithelialen Neoplasien (CIN) durchgeführt, um eine mögliche Progression zum CC zu verhindern (3). Für die Patientinnen stellt die Diagnose CIN eine große psychische und emotionale Belastung aufgrund des Risikos einer möglichen Entwicklung von Malignomen und assoziierten invasiven Behandlungsverfahren dar (4).

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit der Frage, ob die Therapie einer leicht- bis mittelgradigen CIN mit nicht-invasivem physikalischen Plasma (NIPP) eine suffiziente Behandlungsalternative zu den bisher in der klinischen Praxis verwendeten Verfahren darstellt.

1.1 Epidemiologie

1.1.1 Epidemiologie der zervikalen intraepithelialen Neoplasie

Die zervikale intraepitheliale Neoplasie des Gebärmutterhalses (CIN) bildet die Vorstufe des CC und ist insbesondere eine Erkrankung junger Frauen im gebärfähigen Alter. Mittlerweile gilt der Zusammenhang zwischen CIN und einer persistierenden HPV-Infektion als unumstritten (5).

CIN werden anhand ihrer histologischen Eigenschaften in drei verschiedene Schweregrade unterteilt: CIN1, CIN2 und CIN3. Diese Unterscheidung hilft dabei, das Potenzial der einzelnen Präkanzerosen in Bezug auf ihre Progression zum CC besser einzuschätzen. Die CIN1 wird auch als leichtgradige Dysplasie bezeichnet, bei der sich die dysplastischen Zellen auf das untere Drittel des Epithels begrenzen. Die atypischen Zellen einer CIN2 (mäßiggradige Dysplasie) erstrecken sich über die unteren beiden Drittel des Epithels. Eine CIN3 (schwergradige Dysplasie) beschreibt Zellveränderungen, die fast die gesamte Dicke des Epithels betreffen.

Nach Einführung organisierter Screening-Programme kam es in vielen Ländern zu einem erheblichen Rückgang der Prävalenz des CCs. Zeitgleich wurde eine Zunahme der Inzidenz an detektierten und behandelten Vorstufen beobachtet. Die jährliche Inzidenzrate beträgt bei einer CIN1 1,2, bei einer CIN2 0,8 und bei einer CIN3 0,7 pro 1000 Frauen (6). Die meisten Diagnosen einer CIN1 werden bei Frauen zwischen 20 und 24 Jahren gestellt. Die jährliche Inzidenz beträgt in dieser Altersgruppe 5,1 pro 1000 Frauen. In der Kohorte der 25-29-jährigen Frauen wird jährlich etwa bei 3,8 pro 1000 Frauen eine CIN2 und bei 4,1 pro 1000 Frauen eine CIN3 diagnostiziert (6). Die höchste Prävalenz der schwergradigen Dysplasien tritt in der Altersgruppe von 30 bis 34 Jahren auf (7).

Das CC entwickelt sich aus den oben beschriebenen präkanzerösen Vorstufen auf dem Boden von persistierenden Infektionen mit high-risk Varianten humaner Papillomaviren (hrHPV). Die durchschnittliche Zeit von Beginn der Dysplasie bis zur Entstehung eines CCs wird je nach Quelle auf 5-15 Jahre geschätzt, wobei sich die Dysplasien über alle CIN-Stadien wieder zurückbilden können. Je nach Schweregrad der Dysplasie kann der Zeitraum bis zur Entstehung eines invasiven Karzinoms variieren. Generell liegt die

Inzidenz dysplastischer Veränderungen um den Faktor 100 über der Karzinominzidenz.
(8)

1.1.2 Epidemiologie des Zervixkarzinoms

Im Gegensatz zu anderen Tumoren manifestiert sich das CC schon sehr früh, im Durchschnitt etwa 16 Jahre vor anderen Tumorentitäten (2). Somit handelt es sich beim CC nicht allein um ein Karzinom der postmenopausalen Frau, sondern vielmehr um ein Problemkarzinom fertiler, junger Frauen mit Kinderwunsch. Nach aktuellen Schätzungen leben weltweit rund 2784 Millionen Frauen im Alter über 15 Jahren. Für all diese Frauen besteht das Risiko an einem CC zu erkranken (9).

Bei genauerer Betrachtung der weltweiten Daten von 2022 fällt auf, dass das CC mit etwa 660.000 Neuerkrankungen pro Jahr und mit etwa 350.000 Todesfällen die vierthäufigste Krebserkrankung und Todesursache von Frauen darstellt (10,11). Aus den Daten geht ebenfalls hervor, dass 90 Prozent der beschriebenen Todesfälle in Ländern mit niedrigem bis mittleren Einkommen registriert wurden (1,11)

Die Inzidenz des CCs korreliert invers mit dem Index für humane Entwicklung (Human Development Index (HDI)). Der HDI stellt einen Wohlstandsindikator dar und ermöglicht somit einen Vergleich zwischen verschiedenen Ländern. Er beinhaltet neben dem durchschnittlichen Einkommen der Bevölkerung auch Bildung und Lebenserwartung. In Ländern mit hohem HDI liegt die altersstandardisierte Inzidenzrate des CCs bei etwa 10,4 pro 100.000 wohingegen sie in Ländern mit niedrigem bis mittlerem HDI bei rund 18 pro 100.000 liegt (12). Das CC stellt in Gebieten wie Afrika, Süd- und Zentralasien und Südamerika weiterhin als vorherrschendes Malignom der weiblichen Bevölkerung ein großes gesundheitsökonomisches Problem dar (13). In diesen Regionen beträgt das Risiko einer Frau bis zum Alter von 75 Jahren an einem CC zu erkranken zwischen 2,3 und 3,9 Prozent (3).

In den letzten Jahrzehnten haben sich die Erkrankungs- und Sterberaten deutlich verringert, nicht zuletzt aufgrund des 1971 eingeführten zytologischen Screenings. Trotz alledem erkrankten 2020 in Deutschland etwa 4.640 Frauen an einem CC, was einer standardisierten Erkrankungsrate von 9,5 pro 100.000 Frauen entspricht (2). Des

Weiteren starben 2020 etwa 1.546 Frauen am CC (2). Das mittlere Erkrankungsalter eines CCs liegt mit 53 Jahren deutlich vor anderen Tumorentitäten (2). Zahlen aus dem Jahr 2017 zeigen, dass jede zweite betroffene Frau zwischen 45 und 64 Jahren alt und lediglich ein Viertel der Betroffenen älter als 65 Jahre waren. 40 Prozent der Patientinnen wurden in einem frühen Tumorstadium (Stadium 1) diagnostiziert (14). Deutlich häufiger als invasive Karzinome und im Schnitt 20 Jahre früher wurden in-situ Karzinome, also lokal begrenzte Tumore, die noch nicht in das umliegende Gewebe eingedrungen sind, diagnostiziert (2).

Mittlerweile treten in Deutschland die meisten CCs bei Frauen auf, die in den letzten Jahren vor Diagnosestellung kaum oder überhaupt nicht an den Vorsorgeprogrammen teilgenommen haben (15). Eine weitere Reduktion der Neuerkrankungsrate wäre daher durch eine erhöhte Teilnahme an den angebotenen Untersuchungen zu erwarten.

Die oben aufgeführten Zahlen unterstreichen die Relevanz weiterer Forschung und Evaluierung neuer Früherkennungsmaßnahmen sowie der Entwicklung moderner operativer und medikamentöser Therapien. Es bleibt abzuwarten, ob die 2007 in die Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) aufgenommene HPV-Impfung einen weiteren Rückgang der Inzidenzen bewirken kann.

1.2 Das organisierte Zervixkarzinomscreening

Seit Einführung des opportunistischen Zervixkarzinomscreenings im Jahr 1971 konnte ein deutlicher Rückgang der Inzidenz- und Mortalitätsraten des CCs in Deutschland beobachtet werden (8). Insgesamt konnte die Inzidenz durch jährliche PAP-Abstriche, verbesserte Lebensstandards und Sexualhygiene um 60-80 Prozent reduziert werden (16).

1.2.1 Die Rolle der Vorsorgeprogramme

Das CC zeichnet sich dadurch aus, dass es sich in der Regel sehr langsam entwickelt und selbst hochgradige Vorstufen gut therapierbar sind (17). Somit bietet es durch seine gut zugängliche Lokalisation und das Wissen über die Zusammenhänge mit HPV optimale Bedingungen für ein organisiertes Screening (17).

In vielen Ländern, welche gute sozioökonomische Rahmenbedingungen bieten, konnte in den vergangenen Jahrzehnten gezeigt werden, dass durch frühe therapeutische Interventionen die Progression von Krebsvorstufen zu invasiven Karzinomen effektiv verhindert werden kann. Verdeutlicht wird dies durch die sinkenden Inzidenz- und Mortalitätsraten seit der Einführung des organisierten Zervixkarzinomscreenings. Auch in Deutschland konnte dieser starke Rückgang bestätigt werden. Vor dem Start der Programme war das CC das häufigste Malignom der Frau (17). Heute, rund 50 Jahre nach Einführung der Vorsorgeuntersuchungen mittels zytologischer Abstriche im Jahr 1971, belegt das CC nur noch den vierten Platz der weiblichen Malignome (1).

Zwischen den Jahren 1970 und 2000 kam es insgesamt zu einer Reduktion der Neuerkrankungsrate um 65 Prozent sowie der Sterberate um 60 Prozent (18). Allerdings kam es in den letzten Jahren zu keinem weiteren nennenswerten Rückgang der Inzidenzen. Möglicherweise bestehen hier Zusammenhänge mit der Teilnahme an den oben erwähnten Krebsvorsorgeprogrammen. Untersuchungen zeigen, dass etwa sieben Prozent der in Deutschland beobachteten CCs bei Frauen vorkommen, die unregelmäßig oder überhaupt nicht an den Vorsorgeuntersuchungen teilgenommen haben (19).

Im Vergleich zu anderen europäischen Ländern bewegt sich Deutschland in Bezug auf die Inzidenz- und Mortalitätsraten des CCs weiterhin im Mittelfeld.

Um die Wichtigkeit dieser bisher entwickelten Screening- und Therapiemöglichkeiten zu unterstreichen, genügt ein Blick in die Entwicklungsländer wie beispielsweise in viele Länder Afrikas. Hier zählt das CC weiterhin zu den am häufigsten tödlich verlaufenden Krebserkrankungen (13).

1.2.2 Vorsorgeprogramm in Deutschland und kürzliche Neuerungen

Im Jahr 1971 wurde ein Programm zur Früherkennung des Gebärmutterhalskrebses eingeführt (8). Es beinhaltete für Frauen ab dem 20. Lebensjahr einmal jährlich einen zytologischen Abstrich der in den Leistungen der gesetzlichen Krankenversicherung (GKV) inbegriffen war (20). Im Zeitraum zwischen 1991 und 2004 verdoppelte sich nahezu die Teilnahmerate an den jährlichen Krebsfrüherkennungsuntersuchungen von 24 Prozent auf 47 Prozent. In den letzten Jahren stagniert jedoch die Inanspruchnahme der Vorsorgemöglichkeit.

Zu beobachten war, dass es bei der Inanspruchnahme der Vorsorgemöglichkeiten große Unterschiede zwischen den einzelnen Altersgruppen und dem sozioökonomischen Status der Frauen gab. Während junge Frauen zwischen dem 25. und 39. Lebensjahr die Programme zu 65 Prozent wahrnahmen sank die Inanspruchnahme bei älteren Frauen zwischen 75 und 79 Jahren um etwa zwei Drittel auf 20 Prozent (18). Zusätzlich war zu beobachten, dass die Teilnahmebereitschaft ebenfalls mit dem sozioökonomischen Status der Frauen sank.

Am 01.01.2020 trat ein Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA) vom 22.11.2018 in Kraft (21). Durch diesen Beschluss kam es zu einer Neuerung im gesetzlich geltenden Gebärmutterhalskrebsscreening. Der zuvor standardmäßig einmal jährlich entnommene zytologische Zervixabstrich wird seitdem nur noch bei Frauen von 20-34 Jahren als alleinige Screening-Methode durchgeführt (21). Bei Frauen ab 35 wird er seither, im Rahmen des sogenannten Kotestings, durch einen HPV-Test ergänzt (21). Im Falle von auffälligen oder positiven Befunden wird je nach Alter der Patientin eine weiterführende Diagnostik eingeleitet.

Generell wird erwartet, dass die Anzahl der feingeweblichen Untersuchungen durch die Biopsieentnahme im Rahmen der Differenzialkolposkopie nach diesen Neuerungen weiterhin zunehmen werden.

1.3 Anatomische Grundlagen

Die verschiedenen Anteile des Uterus unterscheiden sich nicht nur histologisch sondern auch funktionell (22). Der unterste Teil des Uterus, welcher in die Vagina hineinragt, wird Portio uteri bezeichnet. Auf ihr befindet sich eine histologisch und pathologisch bedeutsame Region: Die Transformationszone, kurz T-Zone. In dieser Zone kommt es zu einem dynamischen Wechsel der Epithelien, da hier das mehrschichtige unverhornte Plattenepithel, welches die Ektozervix und die Vagina auskleidet, auf das schleimbildende hochprismatische einschichtige Zylinderepithel der Endozervix trifft (22).

Diese Zone unterliegt den Einflüssen der Sexualhormone des Zyklus und damit auch des Alters (22). Während die Metaplasie der Zervix in der Kindheit noch keine Relevanz hat, wird diese in der Pubertät stark aktiviert. Bei der geschlechtsreifen Frau verschiebt sich die T-Zone unter Einfluss von Östrogen und Gestagen aus dem endozervikalen Abschnitt weiter nach ektozervikal. Dadurch wird bei der geschlechtsreifen Frau das Zylinderepithel bei der SpekulumEinstellung auf der äußeren Portiooberfläche sichtbar (23). Dies wird auch „physiologische Ektopie“ bezeichnet. Im Regelfall verschiebt sich die T-Zone nach der Menopause wieder nach endozervikal (23).

1.3.1 Aufbau der Transformationszone

Die nachfolgende Abbildung 1 veranschaulicht die unterschiedlichen Typen der T-Zone.

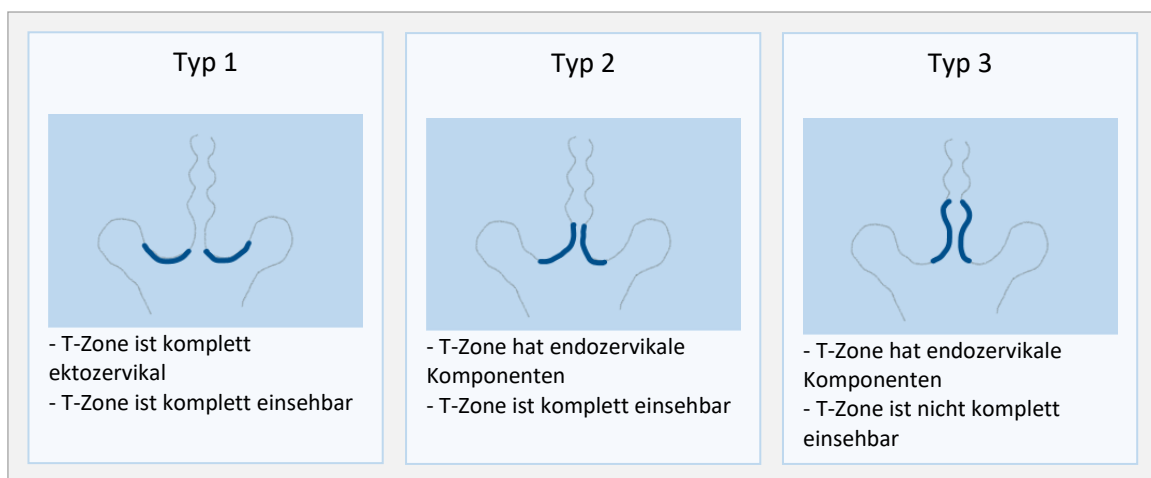


Abbildung 1: Lokalisationen der Transformationszone im Vergleich

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, lässt sich die T-Zone kolposkopisch in drei verschiedene Typen klassifizieren. Unter einer Transformationszone Typ 1 (T1) versteht man eine auf der Ektozervix lokalisierte, vollständig einsehbare Region. Bei einer Transformationszone Typ 2 (T2) liegt eine endozervikale Komponente vor, welche nach Spreizung des Zervikalkanals vollständig einsehbar ist. Auch bei der Transformationszone Typ 3 (T3) liegt eine endozervikale Komponente vor, welche jedoch auch nach Spreizen des Zervikalkanals nur unvollständig einsehbar bleibt.

1.3.2 T-Zone als Angriffsort der hrHPV-Infektion

Die T-Zone ist ein Bereich von zentraler pathophysiologischer Bedeutung und spielt eine Schlüsselrolle bei der Entstehung von HPV-assoziierten Erkrankungen. Dieser Übergangsbereich ist besonders anfällig für pathologische Veränderungen, die häufig durch die Prozesse der Zellproliferation und -umwandlung bedingt sind. Ein entscheidender Mechanismus ist die plattenepitheliale Metaplasie, bei der es zu einem Ersatz des Zylinderepithels durch Plattenepithel kommt (19). Diese metaplastischen Veränderungen sind nicht nur eine normale physiologische Reaktion, sondern auch ein prädisponierender Faktor für die Entwicklung intraepithelialer Neoplasien, insbesondere nach einer hrHPV-Infektion.

HPV infizieren bevorzugt die Basalzellen der T-Zone (24). Diese Basalzellschicht enthält embryonale Stammzellen, die bei anhaltender Infektion durch HPV transformiert werden können. Eine persistierende HPV-Infektion in dieser Zone kann zur Entwicklung einer hochgradigen CIN führen, die das Risiko eines CCs erheblich erhöht (24). Die Fähigkeit von HPV durch Mikrotraumata in das Gewebe einzudringen, erleichtert die Infektion der Basalzellen, wodurch die Viren Zugang zu diesen empfindlichen Zellen erhalten (25).

In der klinischen Praxis ist die Untersuchung der T-Zone von entscheidender Bedeutung für die Früherkennung der CIN. Die Kolposkopie, ein zentrales diagnostisches Verfahren, ermöglicht die direkte Beurteilung der T-Zone. Dabei werden gezielt die obersten Zellschichten dieser Region analysiert, um frühe Anzeichen einer Dysplasie oder Neoplasie zu erkennen und rechtzeitig therapeutische Maßnahmen einzuleiten (23).

1.4 Humane Papillomaviren als Hauptrisikofaktor

Weltweit verursachen hrHPV etwa 600.000 invasive Karzinome und 300.000 Todesfälle pro Jahr (26). Einen Großteil davon macht das CC mit 500.000 Karzinomen aus (26).

Der Zusammenhang zwischen einer CIN und einer Infektion mit hrHPV gilt mittlerweile als unumstritten. Nach aktuellem Forschungsstand geht man davon aus, dass eine persistierende hrHPV-Infektion eine notwendige Voraussetzung für die Entstehung eines CC darstellt. Wie zahlreiche Studien belegen, kann in 99,7 Prozent aller malignen und prämaligen Zervixveränderungen eine Infektion mit hrHPV nachgewiesen werden (5).

1.4.1 Historisches

1976 formulierte der deutsche Krebsforscher und Virologe Prof. Harald zur Hausen die Hypothese, dass HPV wesentlich an der Entstehung von CCs beteiligt sind (20,27). Ebenfalls stellte er fest, dass sich die Epidemiologie von Genitalwarzen und CC ähneln. Er schloss daraus, dass beide Läsionen verschiedene HPV-Typen enthalten müssen, da Genitalläsionen, im Vergleich zu normalen Hautwarzen, maligne entarten können (28).

Seiner Arbeitsgruppe gelang es nach intensiver Forschung die genomische DNA von HPV11 aus einem Larynxpapillom (29) sowie HPV6 aus genitalen Warzen zu klonieren (30). Auf Basis dieser beiden Genome fußte die Suche nach weiteren möglichen Erregern maligner Erkrankungen wie beispielsweise des CCs. Im Jahr 1983 gelang ein erster aufsehenerregender Durchbruch indem in vier von 24 malignen Tumoren HPV11-verwandte DNA-Sequenzen detektiert werden konnten (31). Fünf Monate später gelang der finale Durchbruch indem ebenfalls aus einem CC HPV11-verwandte DNA-Sequenzen isoliert werden konnten. Bei der Analyse von weiteren CCs konnte das gleiche Virus, welches später HPV16 bezeichnet wurde, in 61 Prozent der Proben nachgewiesen werden (32). Bereits ein Jahr später gelang der Nachweis und die Klonierung von HPV18 als zweithäufigster HPV-Typ in CCs (33).

Im Jahr 2008 wurde Prof. Harald zur Hausen für die Entdeckung der HPV-Infektion als Ursache des CC und dessen Bedeutung als Meilenstein in der gynäkologischen Onkologie mit dem Medizin-Nobelpreis geehrt. Inzwischen belegen umfangreiche

molekularbiologische und epidemiologische Studien, dass die Infektion mit bestimmten HPV-Typen einen notwendigen Risikofaktor für die Entstehung von CCs darstellt.

1.4.2 Aufbau und Klassifikation

HPV gehören zur Familie der Papillomaviridae und sind kleine, unbehüllte Viren mit einem ikosaedrischen Kapsid (34,35). Dieses Kapsid besteht aus zwei Hauptproteinen: L1 und L2. Das L1-Protein bildet die Struktur des Kapsids und ist für das antigene Potenzial verantwortlich, während das L2-Protein infektionssteigernde Eigenschaften besitzt (36). Das Genom des Virus besteht aus einem ringförmigen, doppelsträngigen DNA-Molekül mit einer Länge von etwa 8.000 Basenpaaren (37) und kodiert für insgesamt acht Proteine: sechs frühe (engl.: early; E1, E2, E4, E5, E6, E7) und zwei späte (engl.: late; L1, L2) (38). Die frühen Proteine sind wesentlich für die virale DNA-Replikation, die Transkription der viralen Gene sowie die Virusfreisetzung verantwortlich. Einige dieser Proteine, insbesondere E5, E6 und E7, haben onkogene Eigenschaften, indem sie wichtige Tumorsuppressorproteine wie p53 und das Retinoblastomprotein (pRB) inaktivieren (38). Die späten Proteine L1 und L2 sind maßgeblich für die Bildung des Kapsids verantwortlich und spielen eine zentrale Rolle bei der Immunogenität der verschiedenen HPV-Typen (39). Aufgrund des Fehlens einer Lipidhülle sind HPV relativ umweltstabil und können über längere Zeit infektiös bleiben.

Von den über 225 bekannten HPV-Typen können etwa 40 den Genitalbereich infizieren, 15 davon werden als kanzerogen eingestuft (40,41). Diese HPV-Typen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich ihres karzinogenen Potenzials und werden hauptsächlich auf Basis der DNA-Sequenz des L1-Gens klassifiziert. Die Klassifikation erfolgt durch die International Agency for Research on Cancer (IARC) in fünf Genera: Alpha, Beta, Gamma, My und Ny. Innerhalb dieser Genera werden die HPV-Typen weiter in spezifische Typen unterteilt, wobei jeder Typ mehr als zehn Prozent Sequenzabweichung zum nächstverwandten Typ aufweisen muss (40). HPV-Typen können auch nach ihrem onkologischen Potenzial in „high-risk“ (hr) und „low-risk“ (lr) Serotypen unterteilt werden (42).

Die für die Entstehung von CC relevanten HPV-Typen gehören zum Genus Alpha. Während Infektionen mit lrHPV-Typen, wie HPV6 und HPV11, in der Regel harmlos

sind und lediglich Genitalwarzen (*Condylomata acuminata*) verursachen, sind die hrHPV-Typen, insbesondere HPV16 und HPV18, für etwa 70 Prozent der weltweiten Fälle des CCs verantwortlich. Insgesamt wurden 13 hrHPV-Typen von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als Karzinogene eingestuft. Diese Typen exprimieren die Onkoproteine E6 und E7, die in der Lage sind, Tumorsuppressorgene wie p53 und pRB zu inaktivieren, wodurch sie die zelluläre Transformation hin zur Malignität fördern (38,42).

1.4.3 Inzidenz der HPV-Infektion

HPV sind die häufigsten Erreger genitaler Virusinfektionen und zählen weltweit zu den am häufigsten sexuell übertragbaren Erregern (5). Mit einer Prävalenz von 30 Prozent in der asymptomatischen Bevölkerung ist eine HPV-Infektion häufig und zählt daher nicht zu den sexuell übertragbaren Erkrankungen im eigentlichen Sinne. Dies ist insbesondere bei der Aufklärung von Patientinnen über Infektionsketten und deren Auswirkungen auf die Partnerschaft von Bedeutung (43).

Das Risiko einer Infektion besteht bereits ab den ersten Sexualkontakten und steigt mit der Anzahl verschiedener Geschlechtspartner kontinuierlich an. Dabei kann die Transmission sowohl durch direkten sexuellen Kontakt als auch indirekt über kontaminierte Gegenstände stattfinden (44). Schätzungen zufolge infizieren sich 80-90 Prozent der sexuell aktiven Männer und Frauen mindestens einmal mit HPV, aber nur in wenigen Fällen entwickelt sich daraus ein Karzinom (45).

Die Infektion bleibt aufgrund des schmerz- und symptomlosen Verlaufs meist unbemerkt (46).

1.4.4 Karzinogenese des Zervixkarzinoms

Der Übertragungsweg einer HPV-Infektion erfolgt meist durch direkten Haut- oder Schleimhautkontakt, vor allem im Rahmen sexueller Aktivität (44). Nach der Infektion infiziert das Virus die basalen Epithelzellen des Gebärmutterhalses, vorwiegend in der sogenannten T-Zone (22).

In den meisten Fällen ist das Immunsystem in der Lage, die HPV-Infektion innerhalb von sechs bis 24 Monaten zu eliminieren, bevor es zu schweren Zellveränderungen kommt (4). Dies gilt insbesondere für junge Frauen mit einem intakten Immunsystem. Studien zeigen, dass etwa 70-90 Prozent der HPV-Infektionen innerhalb von ein bis zwei Jahren spontan ausheilen (44). Die körpereigene Immunabwehr ist also in der Lage, die Infektion erfolgreich zu bekämpfen und zu verhindern, dass sie langfristige Schäden verursacht.

Eine spontane Ausheilung der Infektion ist hauptsächlich auf die Aktivierung der zellvermittelten Immunantwort zurückzuführen, bei der T-Lymphozyten virale Antigene erkennen und die infizierten Zellen eliminieren (47). Dieser Prozess kann jedoch verzögert ablaufen, da HPV Mechanismen entwickelt haben, um der Immunüberwachung zu entgehen, beispielsweise reduziert das Virus die Expression von Antigenen auf der Oberfläche der infizierten Zellen, was die Erkennung durch das Immunsystem erschwert (47). Trotz dieser Immunflucht gelingt es dem Körper bei den meisten Menschen, die Infektion zu bekämpfen. Gelingt dies nicht, spricht man von einer persistierenden Infektion, die das Risiko einer malignen Entartung erheblich erhöht.

Die Pathogenese des CC ist eng mit der hrHPV-Persistenz verknüpft. Nach dem Eindringen des Virus in die Wirtszelle kann das HPV-Genom entweder episomal (unabhängig vom Wirtsgenom) oder integriert in das Genom der infizierten Zelle vorliegen (48). Vor allem die Integration der viralen DNA in das Wirtsgenom gilt als kritisches Ereignis in der Tumorentwicklung. In diesem Fall kommt es zur übermäßigen Expression der viralen Onkoproteine E6 und E7, die wichtige Tumorsuppressorproteine der Wirtszelle inaktivieren. Unter normalen Bedingungen ist das Tumorsuppressorprotein p53 für die Kontrolle des Zellzyklus und die Einleitung der Apoptose bei schwerwiegenden DNA-Schäden verantwortlich (49). Es wirkt als „Wächter des Genoms“ und sorgt dafür, dass defekte Zellen entweder repariert oder eliminiert werden (49). Das HPV-E6-Protein bindet jedoch an p53 und führt zu dessen Degradierung. Ohne p53 können beschädigte Zellen weiterhin überleben und sich unkontrolliert vermehren, wodurch das Risiko für Mutationen steigt (49). Ein weiteres Schlüsselprotein, das durch HPV inaktiviert wird, ist das pRb, welches die Zellproliferation kontrolliert (50). Normalerweise blockiert pRb den Übergang von der G1-Phase in die S-Phase des Zellzyklus und verhindert so, dass sich Zellen ungehemmt teilen. Durch die Interaktion mit dem E7-Protein wird pRb jedoch inaktiviert, was ebenfalls zu einer unkontrollierten

Zellteilung führt. Diese Dysregulation des Zellzyklus ist ein zentraler Mechanismus in der malignen Entartung. In der Folge wird die Transkription des Gens für p16^{INK4a} hochreguliert, da die Zellen versuchen, den unkontrollierten Zellzyklus fortlaufend zu blockieren. Die vermehrte p16^{INK4a}-Expression dient daher als indirekter Marker für eine hrHPV-assoziierte Veränderung in den Zellen.

Die unkontrollierte Proliferation von Zellen und die Anhäufung von DNA-Schäden durch die HPV-vermittelten Mechanismen können zur Entstehung von CIN führen. Wenn diese präkanzerösen Veränderungen nicht erkannt und behandelt werden, kann sich über Jahre oder sogar Jahrzehnte hinweg ein CC entwickeln. Dies geschieht, wenn die Krebszellen die Basalmembran durchbrechen und in das darunterliegende Gewebe eindringen. Der Tumor kann sich schließlich auf umliegende Gewebe, Lymphknoten und Organe ausbreiten.

1.5 Diagnostik der CIN

Bereits 1971 wurde in Deutschland das organisierte Zervixkarzinomscreening eingeführt. Es ermöglicht seitdem eine effektive Methode zur Identifikation präneoplastischer und neoplastischer Läsionen. Durch eine regelmäßige Teilnahme an den Vorsorgeprogrammen werden CIN heutzutage etwa fünfzig- bis einhundertmal häufiger als invasive Befunde diagnostiziert, was die Prognose der Patientinnen deutlich verbessert.

Die CIN-Diagnostik erfolgt heutzutage nach dem sogenannten Kongruenzprinzip. So verfolgt die Diagnose von CIN oder CC im Anschluss an eine Diagnosekette, welche die Stufen Zytologie – HPV-Diagnostik – Kolposkopie – Histologie umfasst (22).

1.5.1 Zytologische Diagnostik

Die zytologische Diagnostik, eingeführt in den 1950er Jahren von George Papanicolaou, revolutionierte die Früherkennung des CCs (51). Der nach ihm benannte PAP-Test, eine kostengünstige und weit verbreitete Methode, ermöglichte die Identifizierung präkanzeröser Läsionen und präklinischer Karzinome und verbesserte das Screening erheblich, weit über die bisherige visuelle Inspektion hinaus. Der PAP-Abstrich bleibt bis heute ein zentraler Bestandteil des Zervixkarzinom-Screenings und bildet die Grundlage für weiterführende Verfahren wie die flüssigkeitsbasierte Zytologie, die sowohl manuell als auch computerassistent ausgewertet werden kann.

In Deutschland unterliegt die zytologische Untersuchung von Zervixabstrichen im Rahmen des Primärscreenings und der Abklärungsdiagnostik strengen gesetzlichen Vorgaben. Diese sind in der G-BA-Richtlinie festgelegt, die klare Anforderungen an die Struktur- und Prozessqualität definiert. Die Qualitätssicherung wird durch § 135 Absatz 2 des Sozialgesetzbuches Fünftes Buch (SGB V) geregelt, welcher seit dem 1. Januar 2015 in Kraft ist (21). Diese Regelung stellt sicher, dass hohe Standards bei zytologischen Untersuchungen eingehalten werden, was entscheidend für die CC-Früherkennung ist.

Die durch eine HPV-Infektion ausgelösten molekularbiologischen Veränderungen zeigen sich in auffälligen zytologischen Merkmalen, insbesondere in der Kerngröße, Kernmorphologie und Chromatinstruktur der Zellen des Zervixepithels (52). Diese

Veränderungen werden durch spezielle Färbetechniken sichtbar gemacht und bilden die Grundlage der zytologischen Klassifikation. Leichtgradige Dysplasien, wie CIN1, zeigen oft Koilozyten, charakteristische Marker für eine HPV-Infektion (52). Mittelschwere bis schwergradige Dysplasien (CIN2 und CIN3) hingegen weisen zunehmend aneuploide Kerne und veränderte Chromatinstrukturen auf, was auf eine persistierende HPV-Infektion und eine beginnende maligne Transformation hinweist (52).

Die Zellgewinnung für die zytologische Diagnostik erfolgt durch Abstriche der Zervix uteri, wobei Instrumente wie der „cervical broom“, die „extended tip spatula“ oder Kombinationen aus Spatel und endozervikaler Bürste (z.B. Cytobrush) verwendet werden. Wichtig ist, dass die gesamte T-Zone sowie das Endozervixepithel abgedeckt werden, um repräsentatives Zellmaterial zu erhalten. Nach der Entnahme werden die Zellen auf einen Objektträger aufgebracht und sofort fixiert, um Trocknungsartefakte zu vermeiden. Die Fixierung erfolgt entweder durch Sprays oder durch das Eintauchen der Objektträger in 96%igen Alkohol. Anschließend werden die Proben angefärbt und zytologisch unter dem Mikroskop begutachtet. Die Befunde werden nach der Münchner Nomenklatur III (MN III) klassifiziert, die seit 2015 in Deutschland verbindlich ist (53).

Diese MN III bietet eine strukturierte Einteilung der zytologischen Befunde und bildet die Grundlage für das Management von Zervixdysplasien. Sie ermöglicht eine differenzierte Bewertung der Befunde und eine bessere Übertragbarkeit in das international anerkannte Bethesda-System (TBS) (53). Besonders die dreistufige Graduierung der plattenepithelialen Dysplasien zielt darauf ab, Überdiagnosen und Übertherapien, insbesondere bei jungen Frauen, zu vermeiden.

Ein bedeutender Nachteil der zytologischen Diagnostik ist jedoch die hohe Interobservervariabilität, die zu einer mäßigen Reproduzierbarkeit führt (15). Die konventionelle Zytologie weist zwar eine hohe Spezifität (98–99%) auf, zeigt jedoch eine oft unzureichende Sensitivität (ca. 51%) für die Erkennung präkanzeröser Läsionen (54). Dies kann zu falsch-negativen oder falsch-positiven Befunden führen, was entweder das Risiko eines übersehenen Karzinoms oder unnötiger Behandlungen erhöht. Trotz dieser Herausforderungen bleibt die konventionelle Zytologie ein zentraler Bestandteil der Krebsfrüherkennung, wobei alternative Methoden wie die Dünnschichtzytologie und

computergestützte Zytologie entwickelt wurden, um die diagnostische Genauigkeit zu verbessern.

Die Dünnschichtzytologie (Liquid Based Cytology, LBC) stellt eine moderne Alternative zur konventionellen Zytologie dar. Dabei wird das Zellmaterial in einer speziellen Flüssigkeit fixiert und in einer dünnen Schicht auf einen Objektträger aufgebracht. Dieses Verfahren reduziert die Überlagerung von Zellen und verbessert die Probenqualität, was zu einer genaueren Diagnostik führen kann. Trotz der Vorteile in der Probenqualität und einer verkürzten Mikroskopiedauer hat sich die LBC jedoch als teurer erwiesen, ohne eine signifikant höhere Sensitivität als die konventionelle Zytologie nachweisen zu können (13).

1.5.2 Kolposkopische Diagnostik

Die Kolposkopie, ein diagnostisches Verfahren, das 1925 von dem deutschen Gynäkologen Hans Hinselmann entwickelt wurde, hat sich als entscheidendes Instrument zur Identifizierung präkanzeröser Frühstufen und zur verbesserten Detektion präklinischer Karzinome etabliert (22). Sie stellt gemeinsam mit Biopsie und HPV-Tests ein zentrales Verfahren zur Abklärung auffälliger zytologischer Befunde dar. In Deutschland spielt die Kolposkopie eine Schlüsselrolle in der Diagnostik und Therapieplanung, was durch das Qualitätssicherungssystem der Arbeitsgemeinschaft Zervixpathologie und Kolposkopie (AG CPC) unterstützt wird. Diese führte 2004 das Kolposkopiediplom ein, das als Zertifizierung für die Qualität und Fachkenntnisse in der Kolposkopie gilt (55).

Die Kolposkopie mit Knipsbiopsie wird als Goldstandard zur histologischen Untersuchung bei zytologischen Auffälligkeiten, anhaltenden hrHPV-Infektionen und unklaren Befunden in der Krebsfrüherkennung betrachtet (8). Sie ist das zentrale diagnostische Verfahren in vielen weltweiten Screeningprogrammen und spielt eine entscheidende Rolle in der differenzialdiagnostischen Abklärung sowie bei der Therapieplanung für histologisch gesicherte Neoplasien. Besonders bei der Diagnose von CIN3-Läsionen wird die Differenzialkolposkopie mit Biopsie als Goldstandard eingesetzt, um präzise Befunde und gezielte Therapieentscheidungen zu ermöglichen (8).

Bei den meisten Frauen im geschlechtsreifen Alter kann die T-Zone direkt eingesehen werden (56). Veränderungen des Epithels und Gefäßauffälligkeiten, wie etwa Mosaik und Punktierung, sind hierbei wichtige Hinweise auf eine mögliche Dysplasie. Europäische Leitlinien zur Prävention des Zervixkarzinoms, in Übereinstimmung mit den US-amerikanischen Leitlinien, betrachten die Abklärungskolposkopie als den Goldstandard in der Diagnostik des frühen CCs und seiner Vorstufen (57). Diese Abklärungskolposkopie wird von erfahrenen Untersuchern (Expertenkolposkopie) zur histologischen Sicherung von squamösen und glandulären Atypien/ Neoplasien und zur Festlegung der operativen Strategie durchgeführt (57).

Obwohl die Kolposkopie in den 1920er-Jahren in Deutschland entwickelt wurde, spielte sie seit Mitte der 1990er-Jahre eine untergeordnete Rolle in der gynäkologischen Ausbildung und Praxis, da sie nicht mehr honoriert wurde (58). Erst mit der Einführung des neuen Screeningprogramms 2020 wurden Algorithmen etabliert, die der Kolposkopie wieder eine zentrale Rolle in der Abklärung auffälliger zytologischer Befunde und positiver HPV-Tests zuweisen.

Die kolposkopische Nomenklatur folgt der durch die AG CPC anerkannten Fassung von Rio 2011, die zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit und zur Vereinheitlichung der Terminologien weltweit entwickelt wurde (55). Diese Nomenklatur verbindet die kolposkopische Beurteilung direkt mit der Therapieplanung, was eine standardisierte Diagnostik und einheitliche Behandlung ermöglicht.

Es wird zwischen zwei Hauptkategorien unterschieden. Den geringgradigen Veränderungen, die typischerweise mit einer HPV-Infektion und CIN1 assoziiert sind (sogenannte Grad-1-Veränderungen oder „minor changes“) und den hochgradigen Veränderungen, die auf das Vorhandensein einer CIN2/3 hindeuten (sogenannte Grad-2-Veränderungen oder „major changes“) (59). Zu den bekanntesten Phänomenen essigweißer Veränderungen an der Zervix gehören das Mosaik und die Punktierung, welche als vaskuläre Phänomene durch die Essigsäure sichtbar gemacht werden (60). Eine feine Punktierung und ein zartes Mosaik stehen meist in Zusammenhang mit geringgradigen Läsionen, während grobe essigweiße Veränderungen eher mit höhergradigen Dysplasien assoziiert werden (60). Diese Befunde, insbesondere in Verbindung mit einer schnellen essigweißen Verfärbung der T-Zone, scharfrandigen

essigweißen Läsionen, dem „inner border sign“, dem „ridge sign“ und dem „rag sign“, sind wichtige Indikatoren für das Vorliegen höhergradiger Läsionen (60).

Die Kolposkopie bietet durch ihre Möglichkeit der Inspektion mit einer 6- bis 40-fachen Lupenvergrößerung wichtige zusätzliche morphologische Informationen (61). Die binokulare und somit dreidimensionale Spektroskopie ermöglicht ergänzend zur Zytologie die Beurteilung der Zellbeschaffenheit der Portio (23). Der Goldstandard in der Abklärung suspekter Befunde ist die Target-Biopsie der Cervix uteri unter kolposkopischer Sicht (62). Eine korrekte Platzierung der Biopsie ist entscheidend für eine akkurate Diagnose. Die Durchführung von zwei Biopsien gilt als zuverlässig (62).

Zur Unterstützung der Diagnostik werden während der Kolposkopie Färbungen eingesetzt. Die Essigsäureprobe, bei der eine 3- bis 5%ige Essigsäurelösung auf die Zervix appliziert wird, ist eine der häufigsten Methoden (61). Diese Lösung hat wenig Einfluss auf normales Platten- oder Drüsenepithel, kann jedoch metaplastisches oder dysplastisches Gewebe durch eine weißliche Verfärbung sichtbar machen (19). Diese Veränderungen werden durch die in Relation zum Zytoplasma vergrößerten Zellkerne bedingt, da Essigsäure einen dehydrierenden Effekt bewirkt (19). Die Schillersche Jodprobe dient der Unterscheidung zwischen glykogenhaltigem Plattenepithel, das sich dunkelbraun bis schwarz färbt, und jodnegativem Zylinderepithel oder neoplastischen Zellen, die sich nur schwach oder gar nicht anfärben (61).

Insgesamt bietet die Kolposkopie eine präzise Methode zur Abklärung und Behandlung von zervikalen Auffälligkeiten und ist ein unverzichtbares Werkzeug in der gynäkologischen Diagnostik.

1.5.3 Histologische Diagnostik

Neben Zytologie und Kolposkopie spielt die histologische Diagnostik eine zentrale Rolle in der Früherkennung und Behandlung des CCs. Als Goldstandard gilt die Diagnostik am Hämatoxylin-Eosin (HE)-gefärbten Präparat, da diese Methode eine präzise Korrelation zwischen zytologischen und histologischen Befunden ermöglicht (63).

Die Kolposkopie mit Biopsieentnahme gewinnt zunehmend an Bedeutung als Goldstandard in der Diagnostik des CCs. Die Proben für die histologische Untersuchung

werden typischerweise im Rahmen einer Kolposkopie gewonnen, bei der Biopsien von verdächtigen Bereichen der Zervix entnommen werden (63). Angesichts der begrenzten Spezifität der kolposkopischen Diagnose, insbesondere bei Befunden des Typs „minor changes“, sollte die Indikation zur Biopsie großzügig gestellt werden, insbesondere bei verdächtigen zytologischen Befunden oder langandauernden hrHPV-Infektionen. Dies ist notwendig, da hinter scheinbar harmlosen, essigweißen Arealen auch höhergradige CIN verborgen sein können (19).

Die histologische Klassifikation zervikaler Dysplasien erfolgt nach zwei unterschiedlichen Systemen (8). Im deutschsprachigen Raum wird gemäß der neuen S3-Leitlinie „Prävention des Zervixkarzinoms“ weiterhin die klassische dreistufige Einteilung der CIN in die Grade 1 bis 3 verwendet. Diese Einteilung ermöglicht eine differenzierte Betrachtung der Läsionen, die in der Praxis von hoher Relevanz ist. International hingegen hat die WHO in ihrer Klassifikation von 2014 eine zweistufige Einteilung etabliert, die zwischen niedriggradigen (LSIL) und hochgradigen (HSIL) intraepithelialen Läsionen unterscheidet (8). LSIL-Läsionen repräsentieren dabei produktive HPV-Infektionen mit geringem Progressionsrisiko, erkennbar an der Morphologie von Koilozyten, während HSIL-Läsionen eine transformierende hrHPV-Infektion anzeigen, die ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines invasiven Karzinoms birgt (63).

Die Entscheidung, in Deutschland weiterhin das dreistufige System zu verwenden, basiert auf der differenzierten Betrachtung der CIN2- und CIN3-Läsionen (64). Studien zeigen, dass lediglich CIN3-Läsionen ein signifikantes Progressionspotenzial besitzen, während etwa 50 Prozent der CIN2-Läsionen eine Tendenz zur spontanen Rückbildung zeigen (64). Eine Zusammenführung von CIN2 und CIN3 zu einer HSIL-Gruppe könnte daher zu einer Übertherapie führen, die insbesondere bei jungen Frauen mit einem erhöhten Risiko für Frühgeburten einhergehen würde (64).

Trotz der Etablierung des HE-Schnittes als Goldstandard gibt es Herausforderungen in der histologischen Diagnostik. Insbesondere die Interobserverübereinstimmung, also die Übereinstimmung zwischen verschiedenen Pathologen bei der Beurteilung der Präparate, ist nur mäßig (63). Dies stellt eine bedeutsame Limitation dar, die in der klinischen Praxis berücksichtigt werden muss.

1.5.4 HPV-Diagnostik

Die HPV-Diagnostik hat sich als entscheidender Bestandteil des Screenings zur Früherkennung von CC etabliert. Die IARC, die mit der WHO affiliert ist, hat den HPV-Test als mindestens ebenso effektiv wie die traditionelle Zytologie im Screening eingestuft (65). Der Nachweis einer HPV-Infektion erfolgt durch die direkte Identifikation von HPV-DNA oder -RNA in Zellabstrichen oder Gewebeproben.

Für die HPV-Diagnostik kommen verschiedene Testverfahren zum Einsatz. Der Hybrid Capture II-Test (HC2), ein HPV-DNA-Test, wurde 2003 von der amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA für das Zervixkarzinom-Screening zugelassen und war fast ein Jahrzehnt lang der Standardtest für den HPV-Nachweis (66). Dieser Test, der von der Firma Qiagen entwickelt wurde, identifiziert 13 hochriskante HPV-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 und 68), weist jedoch keine Differenzierung der einzelnen HPV-Genotypen auf (67). Die Testsysteme basieren auf der Hybridisierung von HPV-DNA mit komplementären RNA-Sonden, um das Vorhandensein von Hochrisiko-HPV-Typen nachzuweisen (36). Das Testergebnis wird als entweder hrHPV-positiv oder hrHPV-negativ angegeben (67).

Die Durchführung des HPV-Tests erfolgt auf Basis von Zervixabstrichen, bei denen eine Infektion mit einem oder mehreren hrHPV-Typen nachgewiesen werden kann. Nahezu 100 Prozent aller CC sind mit einer HPV-Infektion assoziiert (5). Dennoch führt nur ein kleiner Teil der HPV-Infektionen zu hochgradigen Dysplasien oder Karzinomen; die Mehrheit der Infektionen verläuft transient und selbstlimitierend (5). Im Gegensatz zur Zytologie, die veränderte Zellen direkt erkennt, stellt der HPV-Test einen indirekten Nachweis dar, der auf eine mögliche präinvasive oder invasive Läsion hindeutet (5).

Ein wesentlicher Vorteil des HPV-Tests liegt in seiner höheren Sensitivität und dem geringeren subjektiven Einfluss im Vergleich zur Zytologie. Der HPV-Test weist eine Sensitivität von etwa 90-95 Prozent auf, während die Zytologie eine Sensitivität von etwa 51 Prozent bietet (54,68). Die Spezifität des HPV-Tests ist hingegen etwas geringer, bei etwa 90 Prozent, verglichen mit der Zytologie, die eine Spezifität von 98-99 Prozent aufweist (54,68). Die höhere Sensitivität des HPV-Tests bei der Detektion hochgradiger Vorstufen (CIN2+) und seine bessere Reproduzierbarkeit machen ihn zu einem

wertvollen Werkzeug im Screening-Prozess (57). Ein negativer HPV-Test hat zudem einen hohen negativen Vorhersagewert (57).

Dennoch hat der HPV-Test seine Limitationen. Er kann nicht zwischen transienten und persistierenden HPV-Infektionen unterscheiden, was die Interpretation der Testergebnisse erschwert. Da sich Dysplasien oft von selbst zurückbilden können und eine HPV-Infektion nicht zwangsläufig persistierend ist, werden häufig Kontrolluntersuchungen nach einer gewissen Zeit durchgeführt, um dem Körper ausreichend Zeit zur Heilung zu geben.

In Deutschland ist der Einsatz einer Kombination von zytologischen Abstrichen und HPV-Tests im Primärscreening vorgesehen. Dies ermöglicht eine umfassendere Einschätzung und trägt dazu bei, die Vorteile beider Methoden zu kombinieren. Die zytologische Untersuchung liefert spezifische Informationen über morphologische Veränderungen, während der HPV-Test eine hohe Sensitivität für die Erkennung hochriskanter HPV-Typen bietet. Dieses kombinierte Vorgehen zielt darauf ab, die Genauigkeit der Früherkennung zu verbessern und das Risiko von Überdiagnosen sowie Unterdiagnosen zu minimieren.

1.5.5 HPV-Nachweis mittels p16^{INK4a} Immunhistochemie

Der Einsatz der p16^{INK4a}-Immunhistochemie ist ein wesentlicher Fortschritt in der Diagnostik zervikaler Läsionen, da er die Identifikation und Unterscheidung von HPV-assoziierten Läsionen von benignen oder reaktiven Gewebeveränderungen ermöglicht. Seit 2002 ist der Nachweis des Proteins p16^{INK4a}, dessen Überexpression als Surrogatmarker für eine transformierende hrHPV-Infektion gilt, in der histologischen und zytologischen Diagnostik etabliert (69). P16^{INK4a} ist ein cyklinabhängiger Kinase- (CKC) Inhibitor und wird im Zytoplasma und Zellkern von Zervixepithelzellen exprimiert (70). Dieses zelluläre Protein agiert als Tumorsuppressor und spielt eine zentrale Rolle in der durch das Retinoblastomprotein (pRb) vermittelten Kontrolle des Zellzyklus, indem es den Übergang von der G1- in die S-Phase hemmt und dadurch die Zellproliferation reguliert (70).

Der p16^{INK4a}-Marker ist besonders relevant, da seine Überexpression charakteristisch für Zellen ist, die durch hrHPV transformiert wurden (70,71). Die onkogene Aktivität von hrHPV, insbesondere der Typen HPV 16 und 18, steht in engem Zusammenhang mit der Überexpression von p16^{INK4a} (72). Die viralen Onkogene E6 und E7 sind hierbei zentral für die Kanzerogenese, da E7 pRb inaktiviert, wodurch der Zellzyklus enthemmt und eine verstärkte Zellproliferation gefördert wird (73). Diese Enthemmung führt zur Akkumulation von p16^{INK4a} in infizierten Zellen. Der E7-Proteinkomplex verdrängt den Transkriptionsfaktor E2F von seiner Bindung an pRb, was eine Aktivierung des p16^{INK4a}-Gens zur Folge hat (73). Da p16^{INK4a} normalerweise eine antiproliferative Funktion hat, wird seine Überexpression in dysplastischen Zellen zur Folge eines fehlgesteuerten negativen Feedback-Mechanismus, der durch die funktionelle Inaktivierung von pRb ausgelöst wird (74).

In der klinischen Praxis ist die p16^{INK4a}-Immunhistochemie vor allem für die Differenzierung von CIN2/3 und benignen, CIN2/3-ähnlichen Veränderungen von Bedeutung (63). Zu diesen Veränderungen zählen unter anderem Metaplasie, Regenerationsprozesse, atrophe Veränderungen oder Tangentialschnitte (63). In der histopathologischen Diagnostik zervikaler Biopsien treten oftmals differenzialdiagnostische Herausforderungen auf, wenn entzündliche, reparative oder regenerative Veränderungen die Abgrenzung von prämaligen Läsionen erschweren (75). Die Leitlinie folgt den Empfehlungen des LAST-Projekts (Lower Anogenital Squamous Terminology) empfiehlt deshalb den Einsatz der p16^{INK4a}-Immunhistochemie zur Abgrenzung solcher reaktiven und regenerativen Veränderungen (75). Sie unterstützt die diagnostische Sicherheit insbesondere dann, wenn es zu Diskrepanzen zwischen verschiedenen Untersuchern kommt, indem sie die Unterscheidung zwischen neoplastischen und nicht-neoplastischen Läsionen erleichtert (63).

Die immunhistochemische Färbung mit p16^{INK4a} zeigt bei hrHPV-assoziierten CIN-Läsionen eine typische, diffuse und blockartige Färbung, die auch als „block staining“ bezeichnet wird (76). Dabei umfassen CIN-Läsionen im Frühstadium (CIN1) ca. 30 Prozent p16^{INK4a}-positiver Fälle, während dieser Anteil bei höhergradigen Läsionen auf etwa 80–90 Prozent (CIN2) und 99 Prozent (CIN3) ansteigt (75,77). Diese Expression wird als eine bandartige, diffuse nukleäre und/oder zytoplasmatische Färbung beschrieben, die mindestens das untere Drittel der epithelialen Zelllagen betrifft (76).

Nicht-hrHPV-assoziierte und nicht-neoplastische Veränderungen weisen in der Regel eine fleckförmige und fokale p16^{INK4a}-Immunreaktion auf, die als negativ gewertet wird (76,78). Eine diffuse und starke Färbereaktion hingegen wird als spezifisch für hrHPV-positive Neoplasien angesehen (70,77). Besonders bei CIN3-Läsionen findet sich eine starke und ausgeprägte Reaktivität auch in den oberen Zellschichten (77). Diese Methode trägt daher zur Verbesserung der intra- und interobserver Variabilität bei, was eine konsistentere Diagnosestellung ermöglicht (77).

Studien zeigen, dass die kombinierte Anwendung der p16^{INK4a}-Immunhistochemie mit der konventionellen HE-Färbung die Qualität, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der histopathologischen Bewertung von Zervixbiopsien deutlich steigert (79). Der Nachweis der p16^{INK4a}-Überexpression bei CIN-Läsionen erlaubt eine differenziertere prognostische Einschätzung: CIN1-Läsionen, die p16^{INK4a}-positiv sind, zeigen ein deutlich höheres Progressionsrisiko in CIN2/3 als p16^{INK4a}-negative CIN1-Läsionen, die oft eine spontane Rückbildung erfahren (79).

Bezüglich der Sensitivität und Spezifität der p16^{INK4a}-Immunhistochemie zeigen Literaturangaben Schwankungen in der Spezifität zwischen 29,6 und 91,7 Prozent sowie in der positiven prädiktiven Wertigkeit zwischen 32,1 und 71,4 Prozent (80). Der Mittelwert der in verschiedenen Publikationen angegebenen Spezifität beträgt etwa 68,1 Prozent, während die positive prädiktive Wertigkeit bei rund 50,8 Prozent liegt (80). Damit ist die p16^{INK4a}-Färbung diagnostisch wertvoller als alleinige Zytologie oder HPV-Testung, reicht jedoch als alleinige prognostische Maßnahme für Therapieentscheidungen noch nicht aus (80). Trotz dieser Einschränkungen trägt die p16^{INK4a}-Immunhistochemie in Kombination mit konventionellen diagnostischen Methoden maßgeblich zur verbesserten Differenzierung und Prognostizierung HPV-assoziiierter zervikaler Läsionen bei und stellt einen wertvollen Bestandteil der zervikalen Krebsvorsorge dar.

1.6 Therapie der CIN

Im Jahr 2004 veröffentlichte die WHO erstmals Richtlinien zur Diagnose und Behandlung von Gebärmutterhalsdysplasien, die 2019 aktualisiert wurden. Die primären Ziele der Therapie sind die Verhinderung des Fortschreitens der Läsionen zu invasiven Karzinomen sowie die Vermeidung einer Übertherapie. Letztere ist von besonderer Relevanz, da sich einige Läsionen spontan zurückbilden können und die Therapie selbst potenziell schädliche Nebenwirkungen haben kann.

1.6.1 Etablierte Therapien von zervikalen intraepithelialen Neoplasien:

Die von der WHO empfohlene Standardtherapie für CIN2/3 umfasst sowohl destruierende als auch exzidierende Verfahren, die darauf abzielen, präkanzeröse Läsionen der Cervix uteri vollständig zu beseitigen (81). Zu den gängigsten Behandlungsmethoden zählen destruierende Verfahren wie Kryotherapie, thermische Ablation oder Lasertherapie sowie Exzisionsverfahren wie die Schlingenexzision der T-Zone (engl.: large loop excision of transformation zone, LLETZ).

Das primäre Ziel der Therapie ist die vollständige Entfernung des erkrankten Gewebes, während gesundes Gewebe geschont wird (77). Dadurch soll das Risiko für Rezidive oder eines CCs minimiert werden. Gleichzeitig ist es wichtig, Komplikationen wie Zervixinsuffizienz und Frühgeburtlichkeit, die bei späteren Schwangerschaften auftreten können, zu verhindern (77). Insbesondere das Volumen des entfernten Gewebes hat Einfluss auf das Risiko postoperativer und geburtshilflicher Komplikationen (77). Eine gewebeschonende und präzise Exzision, unter kolposkopischer Sicht, ist daher essentiell.

Destruierende Verfahren wie die Kryotherapie und Laservaporisation sind insbesondere bei gut einsehbaren Läsionen im Sinne einer T1/2 ohne Beteiligung des Zervikalkanals und ohne Invasion oder Diskrepanzen zwischen Kolposkopie, Zytologie und Histologie anwendbar (82). Die Kryotherapie wird beispielsweise nur dann eingesetzt, wenn die gesamte Läsion sichtbar ist und weniger als 75 Prozent der Ektozervix einnimmt (83). Laservaporisation ist insbesondere bei persistierenden CIN1 und CIN2 indiziert, während bei CIN3 die Exzision vorzuziehen ist, um mögliche invasive Läsionen zu identifizieren.

Exzidierende Verfahren sind vor allem bei hochgradigen Läsionen wie CIN2 und CIN3 indiziert, um das Risiko einer Invasion zu evaluieren (82). Sie ermöglichen zudem eine histologische Aufarbeitung des entfernten Gewebes, was für die Diagnose und Therapieplanung unerlässlich ist. Der Goldstandard für die Behandlung hochgradiger CIN ist die LLETZ. Diese Methode wird aufgrund ihrer Präzision und geringeren Komplikationsrate in Deutschland jährlich etwa 60.000 Mal durchgeführt, um die Entwicklung von invasiven Zervixkarzinomen zu verhindern (84).

Die Tiefe der Konisation korreliert jedoch mit einem erhöhten Risiko für Frühgeburtlichkeit, Zervixstenosen und anderen geburtshilflichen Komplikationen (85). Studien zeigen, dass das Risiko einer Frühgeburt nach Konisation auf das 1,4- bis 7-fache ansteigen kann, abhängig von der Tiefe des entfernten Konus (86). Bei einem Konus von weniger als 10–12 mm liegt das Risiko bei etwa 7,1 Prozent, während es bei einem Konus von mehr als 20 mm auf 10,2 Prozent ansteigt (87). Die Konisation selbst verdoppelt das Risiko für Frühgeburtlichkeit von 5,4 auf 10,7 Prozent, und bei einer weiteren Konisation erhöht sich das Risiko sogar auf 13,2 Prozent (87). Neben Frühgeburtlichkeit können auch andere Komplikationen wie Spätaborte und extrauterine Graviditäten nach Konisation häufiger auftreten (87). Darüber hinaus kann die Fertilität durch die Entfernung eines Teils des Endozervikalkanals beeinträchtigt werden, was zu einer erschwerten Spermienaszension oder zu Stenosen des Zervikalkanals führen kann (85). Diese potenziellen Fertilitätsbeeinträchtigungen sollten bei der Wahl des Verfahrens berücksichtigt werden, insbesondere bei Frauen mit Kinderwunsch (85).

Die gegenwärtig etablierten Standardtherapien sind invasive Verfahren, die mit einer Zerstörung von Gewebe einhergehen und in der Regel die Anwendung einer lokalen oder allgemeinen Anästhesie notwendig machen. Die Notwendigkeit invasiver Eingriffe geht mit psychischem Stress und erheblichen infrastrukturellen Kosten einher.

1.6.2 Weltweite Verfügbarkeit unterschiedlicher medizinischer Behandlungsformen

Das CC ist eine Krebserkrankung, die stark von wirtschaftlichen, sozialen und bildungsbezogenen Ungleichheiten beeinflusst wird.

Länder mit niedrigem und mittlerem Einkommen (LMICs) sind überproportional von CIN betroffen. Die eingeschränkte Verfügbarkeit medizinischer Versorgung in diesen Regionen führt häufig zu begrenzten Behandlungsmöglichkeiten und einer unzureichenden Früherkennung. Laut der WHO sind viele Fälle von CIN in LMICs nicht rechtzeitig diagnostiziert und behandelt, was das Risiko erhöht, dass sich diese Vorstufen zum CC entwickeln.

In Industrieländern hingegen kann der invasive Charakter der derzeitigen Standardtherapien, die oft chirurgische Eingriffe oder aggressive Behandlungsansätze umfassen, zu einer Überbehandlung von CIN führen. Dies kann unnötige Nebenwirkungen und eine erhöhte Belastung für die Patientinnen mit sich bringen.

Daher ist die Entwicklung neuer, nicht-invasiver therapeutischer Ansätze von entscheidender Bedeutung, um sowohl in LMICs als auch in Industrieländern die Herausforderungen im Umgang mit CIN zu bewältigen.

1.7 Neue Therapieoption: nicht-invasives physikalisches Plasma

Plasmamedizinische Anwendungen wie nicht-invasives physikalisches Plasma (NIPP) haben sich in den letzten Jahren zu einem wachsenden, innovativen und vielversprechenden Forschungsgebiet entwickelt. Mit der Gründung der International Society for Plasma Medicine im Jahr 2009 entwickelte sich die Plasmamedizin zu einem vollständig eigenständigen und interdisziplinären Forschungsfeld. Anfang 2022 wurde zu diesem Thema erstmals eine S2k-Leitlinie veröffentlicht (88).

Innerhalb der letzten Dekade konnte zunehmend gezeigt werden, dass NIPP das Potential besitzt völlig neue Therapieaspekte zu eröffnen. Durch seine gewebeschonende, hochgradig anpassungsfähige Anwendbarkeit bei der Behandlung präkanzeröser und kanzeröser Läsionen stellt NIPP eine innovative Therapiemethode für die Zukunft dar (89). Obwohl die meisten Untersuchungen zu den potenziellen Anwendungsmöglichkeiten von NIPP noch in einem frühen Stadium sind, wurden bereits die antimikrobiellen und wundheilungsfördernden Eigenschaften von NIPP in vitro und in vivo erfolgreich untersucht und nachgewiesen, wobei eine sichere Anwendung gewährleistet ist.

In der Dermatologie konnte sich die NIPP-Therapie durch seine multimodalen Wirkmechanismen bereits im klinischen Alltag durchsetzen und findet als suffiziente Behandlungsoption diverser Erkrankungen Anwendung. Viele weitere Fachdisziplinen betreiben derzeit intensive Forschung, um die NIPP-Therapie auch in weiteren Anwendungsbereichen zu etablieren. Ebenfalls für die Behandlung präkanzeröser Läsionen des Gebärmutterhalses findet dieser neuartige Ansatz in jüngster Zeit immer mehr Beachtung.

1.7.1 Historisches

Die Erstbeschreibung von physikalischem Plasma, damals noch als „strahlende Materie“ („radiant matter“) bezeichnet, geht auf das Jahr 1879 zurück, wo es vom britischen Chemiker und Physiker William Crookes beschrieben wurde.

Der heute gebräuchliche Begriff „Plasma“ wurde etwa 50 Jahre später, im Jahr 1928, von Irving Langmuir eingeführt (90). Er fühlte sich durch das Multikomponentengemisch aus

frei beweglichen Elektronen und ionisierten Atomen an den flüssigen, zellfreien Bestandteil des Blutes erinnert.

Das Wort „Plasma“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet „Gemisch“.

1.7.2 Was ist Plasma?

In der Physik wird „physikalisches Plasma“ neben fest, flüssig und gasförmig auch als vierter Aggregatzustand der Materie bezeichnet und beschreibt einen angeregten beziehungsweise ionisierten Gaszustand, der im Vergleich zu den anderen Aggregatzuständen nicht von Temperatur oder Druck abhängig ist (91). Abbildung 2 veranschaulicht den Zusammenhang der verschiedenen Aggregatzustände.

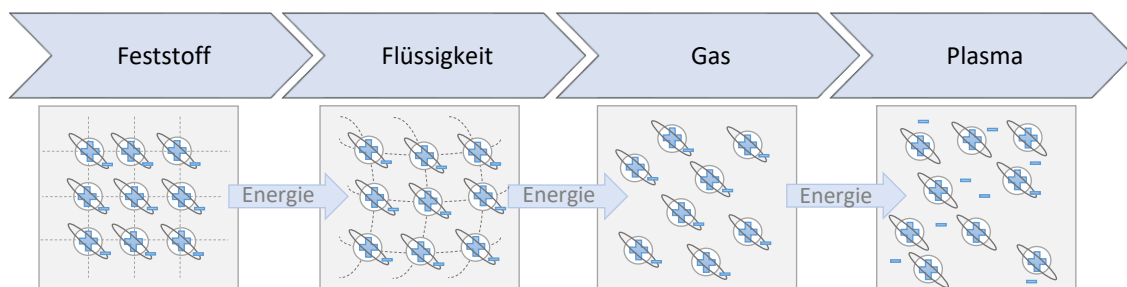


Abbildung 2: Die vier Aggregatzustände

Durch die Zugabe von Energie ist es möglich einen Feststoff in eine Flüssigkeit und weiter in ein Gas zu überführen (92). Der Wechsel der Aggregatzustände geht mit einer Zunahme der Beweglichkeit jedes einzelnen Atoms und Moleküls einher (92). Wenn einem Gas weiter Energie zugeführt wird kommt es zu einer teilweisen oder vollständigen Ionisation der bereits frei beweglichen Teilchen. Das Ergebnis ist ein hochenergetisches, elektrisch leitfähiges Gas, welches als Plasma bezeichnet wird. Im Vergleich zu neutralen Gasen besitzen Plasmen aufgrund frei beweglicher Elektronen und ionisierter Bestandteile eine erhöhte Reaktivität und elektrische Leitfähigkeit (93).

1.7.3 Einteilung von physikalischen Plasmen

Physikalische Plasmen unterscheiden sich in Bezug auf Temperatur und Druck des Trägergases erheblich voneinander (94,95). Man differenziert zwischen Hochdruck-,

Normaldruck- (beziehungsweise Atmosphärendruck-) und Niederdruckplasmen sowie zwischen heißen (thermischen) und kalten (nicht-thermischen) Plasmen (94–96). Die Differenzierung zwischen heißen und kalten Plasmen beruht auf den unterschiedlichen Temperaturen von Elektronen, Ionen und Neutralgasen (97). Eine weitere zentrale Unterscheidung besteht zwischen natürlichen (terrestrischen) und künstlich produzierten Plasmen (98).

Niedertemperaturplasmen gelten als „kalt“, da das Trägergas, wie beispielsweise Argon, Helium oder Umgebungsluft, nur sehr schwach ionisiert wird. Dadurch kühlen die Ionen schnell auf Raumtemperatur ab (99). Zu den bekanntesten natürlichen Plasmen gehören die Sonne, die hauptsächlich aus Plasma besteht, sowie Naturphänomene wie Nordlichter und Blitze. Diese sind in der Regel heiße Plasmen mit Temperaturen, die bis zu mehreren Millionen Grad Celsius erreichen können (100). Es wird angenommen, dass mehr als 95% der Materie im Universum im Plasmazustand vorliegen.

Künstlich erzeugte Plasmen werden in zahlreichen industriellen Anwendungen genutzt. Beispielsweise werden thermische Plasmen in Leuchtstoffröhren, Energiesparlampen und Reklametafeln verwendet. In der Industrie finden thermische Plasmen schon seit Jahrzehnten Anwendung, insbesondere zum Schweißen und Schneiden metallischer Werkstoffe sowie zur Oberflächenbehandlung verschiedener Materialien. Nicht-thermische Plasmen hingegen werden häufig zur Sterilisation hitzeempfindlicher Materialien, wie beispielsweise in der Lebensmittelindustrie, eingesetzt. Darüber hinaus werden nicht-thermische Plasmen zur Sterilisation, Dekontamination und Modifikation von biorelevanten Oberflächen und Materialien wie Operationsbesteck und Implantaten genutzt (101,102).

Im medizinischen Bereich werden thermische Plasmen seit mehr als 20 Jahren erfolgreich eingesetzt (103). Sie spielen eine wichtige Rolle bei der endoskopischen Gewebekoagulation und der Blutstillung während operativer Eingriffe (103). Thermische Plasmen befinden sich in einem sogenannten thermischen Gleichgewicht und weisen in der Regel sehr hohe Gastemperaturen von knapp unter 100 °C bis über 1000 °C auf (104). Diese heißen Plasmen sind jedoch aufgrund ihrer hohen Temperaturen für die direkte Behandlung von Körpergewebe oder Organen weniger geeignet. Anwendungen wie die Argon-Plasma-Koagulation (APC), die erstmals in den 1980er Jahren entwickelt wurde,

nutzen ionisiertes Argon-Gas, um hohe Temperaturen zu erzeugen, die zur Behandlung von Blutungen und Tumoren in der Gastroenterologie, Urologie, Gynäkologie und Pneumologie verwendet werden. Die APC hat sich als sichere und wirksame Methode etabliert, weist jedoch den Nachteil auf, dass sie aufgrund der hohen Temperaturen nicht für die schonende Anwendung an lebendem Gewebe geeignet ist.

Im Gegensatz dazu rückt NIPP seit den 1990er Jahren verstärkt in den Fokus der Forschung. Diese Plasmen werden unter Atmosphärendruck und bei Körpertemperatur erzeugt und befinden sich nicht im thermischen Gleichgewicht. Sie entfalten ihre Wirkung nicht durch thermische Effekte, sondern durch eine komplexe Mischung aus biologisch aktiven Agenzien. Dank der nur partiellen Ionisierung bleibt die Temperatur von NIPP bei 30-40°C, wodurch es sicher im direkten Kontakt mit lebendem Gewebe angewendet werden kann, ohne dieses zu beschädigen (105). Die klinische Anwendung von NIPP bietet somit zahlreiche neue Möglichkeiten, insbesondere in Bereichen, in denen thermische Plasmen aufgrund ihrer hohen Temperaturen ungeeignet wären.

1.7.4 Plasmazusammensetzung

Bei NIPP handelt es sich um einen „Cocktail“ aus diversen biologisch aktiven Agenzien (104). Die verschiedenen Bestandteile sind in ihrer Gesamtheit für das medizinisch nutzbare Wirkungsspektrum verantwortlich. Jedoch ist einzelnen Komponenten eine besondere Dominanz zuzuschreiben.

Die nachfolgende Abbildung 3 veranschaulicht die NIPP-Bestandteile.

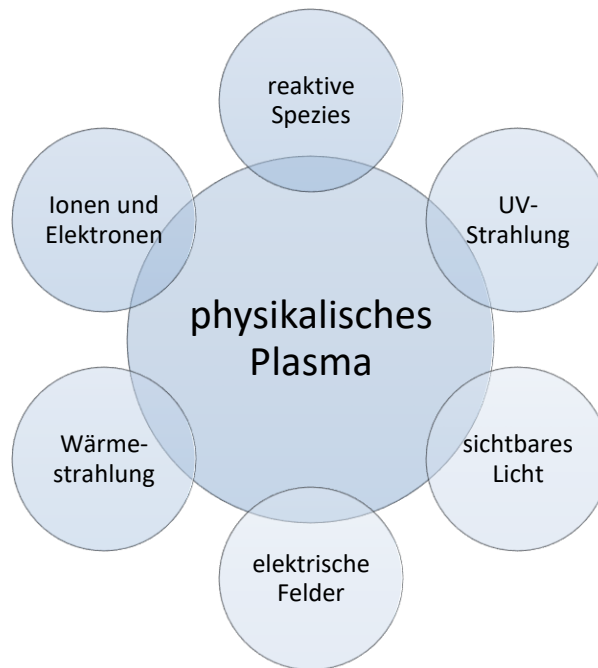


Abbildung 3: Bestandteile nicht-invasiven physikalischen Plasmas

Wie aus Abbildung 3 hervorgeht, handelt es sich bei NIPP um ein ionisiertes, hochreaktives Gasgemisch, welches aus verschiedenen biologisch wirksamen Komponenten zusammengesetzt ist. Es bestehen dauerhafte Wechselwirkungen zwischen den Komponenten untereinander sowie zwischen den einzelnen Komponenten und ihrer Umgebung (106).

Beim Überführen des Ausgangsgases in physikalisches Plasma entstehen frei bewegliche Elektronen sowie ionisierte Atome und Moleküle. Den für die NIPP-Wirkung hauptverantwortlichen Bestandteil stellen hierbei verschiedene reaktive Spezies dar, die sogenannten freien Radikale. Eine Vielzahl von reaktiven Sauerstoff- (ROS = reactive oxygen species) und Stickstoffspezies (RNS = reactive nitrogen species) sind an den komplexen Plasmawirkungen beteiligt. Reaktive Spezies entstehen auch physiologisch im menschlichen Körper. Die in NIPP enthaltenen ROS und RNS sind grundsätzlich dieselben Moleküle, die auch im Körper im Rahmen des normalen Zellstoffwechsels freigesetzt werden. Im Organismus übernehmen sie wichtige Funktionen innerhalb der Steuerung von physiologischen, aber auch pathologischen Prozessen.

Das charakteristische Leuchten des Plasmas entsteht durch die Emission von Photonen, welche dazu führt, dass die angeregten Teilchen wieder in ihren Ausgangszustand

zurückkehren (107). Neben sichtbarem Licht emittiert Plasma zusätzlich elektromagnetische Wellen und UV-Strahlung (UVA, UVB, UVC) (107). Im Rahmen der Ionisierung des Ausgangsgases entsteht ebenfalls Hitze- beziehungsweise Wärmestrahlung.

Die Zusammensetzung von NIPP variiert und ist abhängig von der eingesetzten Energiemenge, der Beschaffenheit des Ausgangsgases sowie den Druckbedingungen. Zudem haben die verschiedenen Bestandteile unterschiedliche Wirkungen. Insbesondere UV-Strahlung sowie die reaktiven Spezies ROS und RNS spielen eine wichtige Rolle.

Einige dieser Komponenten werden schon seit längerem in der Medizin genutzt. So findet Ozon Anwendung in der Wundheilung (108), UV-Strahlung wird in der Photo- und Photochemotherapie eingesetzt (109) und elektrische Felder werden zur elektrischen Nervenstimulation verwendet. Das Besondere an NIPP ist die gleichzeitige Anwendung all dieser Komponenten. Diese simultane Nutzung hat bisher überwiegend positive Ergebnisse erzielt.

Gleichzeitig müssen mögliche negative Effekte berücksichtigt werden. Die gleichzeitige Anwendung eines „Cocktails“ aus diversen biologisch aktiven Agenzien erschwert die gezielte Steuerung der Konzentrationen der einzelnen Bestandteile. Die WHO hat deshalb spezifische Grenzwerte für diese Komponenten festgelegt. Nach aktuellem Forschungsstand ist die sichere Anwendung von NIPP bei Wirkstoffkonzentrationen innerhalb dieser definierten Grenzwerte gewährleistet (110).

2 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Doktorarbeit bestand darin, den therapeutischen Erfolg sowie die klinische Anwendbarkeit und Sicherheit von nicht-invasivem physikalischen Plasma (NIPP) bei leicht- und mittelgradigen cervikalen intraepitheliale Neoplasien (CIN1/2) anhand eines Datensatzes einer prospektiven, monozentrischen, kontrollierten klinischen Studie zu untersuchen, statistisch zu bewerten und dessen Relevanz in den aktuellen Wissensstand einzuordnen.

Die klinische Studie beinhaltete klinische Datensätze von 63 NIPP-behandelten Patientinnen und 287 Patientinnen der Kontrollgruppe jeweils mit histologisch bestätigten CIN1/2-Läsionen. Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit können zukünftig weitere prospektive, randomisierte, kontrollierte klinische Studien für CIN oder andere neoplastische Erkrankungen der Schleimhaut im Bereich der Gynäkologie und darüber hinaus durchgeführt werden.

Im Rahmen dieser Studie standen insbesondere die folgenden Forschungsfragen im Fokus:

- Beeinflusst die NIPP-Anwendung die Remissionsrate von CIN?
- Hat NIPP einen förderlichen Effekt auf die Elimination von hrHPV-Infektionen bei den betroffenen Patientinnen?
- Ist die Applikation von NIPP an der Cervix uteri sicher und frei von unerwünschten Nebenwirkungen?
- Wie wird das Verfahren von NIPP-behandelten Patientinnen erlebt und bewertet?

3 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit stellt die Ergebnisse einer kontrollierten, prospektiven, einarmigen klinischen Studie der Phase IIb (NCT03218436) vor, die von der Abteilung für Frauengesundheit in Tübingen, Deutschland, durchgeführt wurde. Die Studie sollte Aufschlüsse über die Wirksamkeit von NIPP bei CIN1/2-Läsionen liefern.

Patientinnen, die aufgrund auffälliger zytologischer Befunde in die Dysplasiesprechstunde der Universitäts-Frauenklinik Tübingen überwiesen wurden und bei denen sich nach abgeschlossener Diagnostik der Befund einer CIN1/2 ergab, wurden im Anschluss durch Oberärzte, beziehungsweise die von ihnen beauftragten Assistenzärzte, über den Befund und mögliche therapeutische Strategien aufgeklärt. Entsprechend der Konsultationsfassung „S3-Leitlinie Prävention des Zervixkarzinoms“ der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) 02/2016 (8) wurden die Patientinnen sowohl über ein abwartendes Verfahren, mit einer erneuten Befundkontrolle nach sechs Monaten, als auch über eine operative Therapie, in Form eines destruktiven (Laservaporisation) oder exzisionalen Verfahrens (LLETZ-Exzision), informiert. Im Rahmen dieser Studie wurde den Patientinnen alternativ die Möglichkeit zur Studienteilnahme und somit einer innovativen Behandlung mittels NIPP angeboten.

Alle Patientinnen, die während der Studienlaufzeit in der Dysplasiesprechstunde erschienen, entschieden sich entweder für die innovative Therapieoption mittels NIPP oder die bereits langjährig erprobten destruktiven beziehungsweise ablativen Verfahren. Die Diagnose von CIN wurde durch eine kolposkopiegesteuerte Biopsie vor Beginn der Behandlung bestätigt. Die Patientinnen wurden nach Zustimmung zur Teilnahme an der Studie rekrutiert. Zwischen 09/2017 und 03/2022 entschieden sich 63 Patientinnen zur Studienteilnahme und damit zur In-vivo-Evaluierung der NIPP-Behandlung. Diese Patientinnen wurden in die Interventionsgruppe der Studie aufgenommen (NIPP-Gruppe) und nach einem vordefinierten Schema behandelt.

Um herauszufinden, ob Patientinnen mit CIN1/2 von einer Therapie mit NIPP im Vergleich zum abwartenden Vorgehen profitieren, wurden retrospektiv Daten einer Kontrollgruppe erhoben. Die Kontrollgruppe bestand aus 287 Patientinnen, welche zwischen 09/2017 und 03/2022 über die Dysplasiesprechstunde der Universitäts-Frauenklinik Tübingen vorstellig wurden.

3.1 Ethikvotum und Finanzierung

Die beschriebene Arbeit wurde in Übereinstimmung mit dem Ethikkodex des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki) durchgeführt und von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Eberhardt-Karls-Universität Tübingen genehmigt (237-2017BO1).

Vor Studienbeginn erfolgte eine umfassende Information der Patientinnen über den Inhalt und Ablauf der Studie. Während des Aufklärungsgesprächs wurde darüber aufgeklärt, dass die Patientinnen dazu berechtigt sind zu jedem Zeitpunkt die Studienteilnahme abubrechen, ohne negative Konsequenzen befürchten zu müssen. Die Belehrung wurde schriftlich dokumentiert und im Anschluss von den Patientinnen sowie den Untersuchern unterzeichnet.

Die Finanzierung der Untersuchung erfolgte durch das Department für Frauengesundheit in Tübingen.

3.2 Patientenkollektiv

3.2.1 NIPP-Gruppe

In der vorliegenden kontrollierten, prospektiven, einarmigen klinischen Studie der Phase IIb wurden 63 Patientinnen in die NIPP-Gruppe aufgenommen, welche sich im Zeitraum vom 09/2017 bis 03/2022 aufgrund eines suspekten zytologischen Befundes in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik Tübingen vorstellten und nach ausführlicher Aufklärung für die Studienteilnahme entschieden.

3.2.2 Kontrollgruppe

Während der Studienrekrutierung fiel auf, dass sich alle Patientinnen, die die Einschlusskriterien erfüllten, für eine der Therapieoptionen entschieden und somit gegen ein abwartendes Verhalten und die Teilnahme an der Kontrollgruppe.

Daher wurde sich für eine retrospektiv erhobenen Kontrollgruppe aus klinikinternen Daten entschieden. Hierzu wurden Patientinnen aus der Datenbank herausgesucht, welche ebenfalls aufgrund von suspekten zytologischen Befunden zwischen 09/2017 und

03/2022 in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik Tübingen vorstellig wurden und nach abgeschlossener Diagnostik den Befund einer CIN1/2 aufwiesen.

Bei dem Einschluss in die Kontrollgruppe wurde darauf geachtet, dass die Patientinnen zu vergleichbaren Nachuntersuchungsterminen wie die NIPP-behandelte Gruppe in die Sprechstunde einbestellt wurden.

3.2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie wurden Patientinnen mit einer histologisch gesicherten CIN1/2 eingeschlossen. Die Patientinnen mussten zusätzlich mindestens 18 Jahre alt sein und eine sicher beurteilbare T-Zone aufweisen (T1 oder T2). Auch der gesamte Läsionsrand sollte gut darstellbar sein. Zuletzt war für die Studienteilnahme ein schriftliches Einverständnis nach ausführlicher Aufklärung der Teilnehmerinnen erforderlich. Von der Studienteilnahme wurden Patientinnen mit histologisch gesicherter CIN3 oder Anhalt für eine invasive/ mikroinvasive oder endozervikale Erkrankung ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren eine nicht vollständig einsehbare T-Zone (T3), schwerwiegende kardio-vaskuläre oder entzündliche Erkrankungen, Schwangerschaft sowie eine Minderjährigkeit der Patientinnen. Ebenso wurden Patientinnen ausgeschlossen, welche sich für eine alternative Behandlungsoption entschieden, bei denen eine fehlende Compliance vermutet wurde oder bei denen keine Einwilligung zur Studie vorlag. Die Indikation für eine NIPP-Behandlung bestand nur, wenn die Läsionen über einen Zeitraum von 24 Monaten persistierten oder ein dringender Behandlungswunsch der Patientinnen bestand, beispielsweise aufgrund eines starken Kinderwunsches, ausgeprägten Ängsten oder erheblichen psychischen Belastungen.

3.3 Studienablauf

Im Rahmen der Studie wurden sowohl Daten zur NIPP-behandelten Gruppe als auch zu einer retrospektiv erhobenen Kontrollgruppe ausgewertet. Das nachfolgende Schaubild veranschaulicht das Studiendesign der NIPP-behandelten Gruppe.

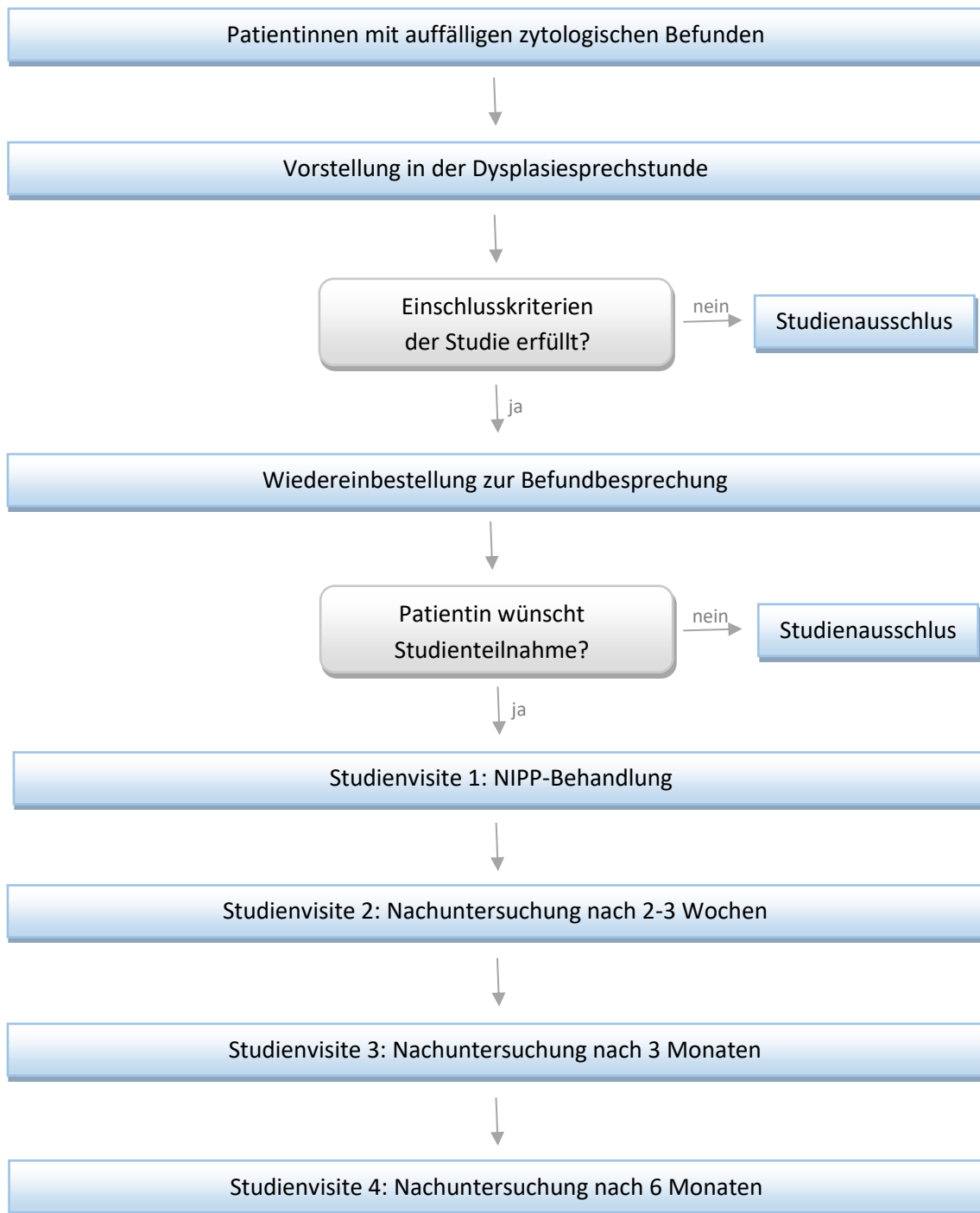


Abbildung 4: Flussdiagramm zum Studiendesign

3.3.1 Untersuchungen vor Studienrekrutierung

Im Rahmen des Erstkontakts, während der Dysplasiesprechstunde, wurden in einem Anamnesegespräch Daten zu den Patientinnen sowie dem bisherigen Krankheitsverlauf erfasst. Im Anschluss an das Gespräch wurde eine klinische Untersuchung durchgeführt. Nach der Inspektion des äußeren Genitales erfolgte die manuelle Untersuchung. Während

der Spiegeleinstellung mittels Einweg-Plastikspekulum wurden gezielt zytologische sowie virologische Abstriche der Portiooberfläche entnommen. Unter kolposkopischer Sicht erfolgte die Beurteilung von Portio, Vagina und Vulva unter Zuhilfenahme spezieller Färbetechniken. Im gleichen Schritt wurde die Lage der T-Zone bestimmt. Auffällige Areale wurden von geschulten und zertifizierten Gynäkologen gezielt biopsiert. Gemäß den Leitlinien wurde keine endozervikale Kürettage durchgeführt, da die T-Zone und der Läsionsrand vollständig einsehbar waren. Während der Kolposkopie wurden die Befunde fotografisch dokumentiert. Abschließend wurde eine venöse Blutentnahme durchgeführt und ein Termin zur Befundbesprechung vereinbart.

3.3.2 Studienrekrutierung

Nachdem die vollständigen Untersuchungsbefunde aus der Dysplasiesprechstunde vorlagen, wurden die Patientinnen zur Befundbesprechung erneut einbestellt.

Im Rahmen der Nachbesprechung wurde mit den Patientinnen ausführlich über die Befunde gesprochen. Patientinnen, die die Einschlusskriterien der Studie erfüllten, wurden durch Oberärzte, beziehungsweise durch die von Ihnen beauftragten Assistenzärzte, über den Befund und mögliche therapeutische Strategien aufgeklärt. Orientiert wurde sich hierzu an den empfohlenen Optionen der S3-Leitlinie „Prävention des Zervixkarzinoms“ der DGGG (8). Die Leitlinie bietet zur Behandlung einer histologisch gesicherten CIN1/2-Läsion zwei verschiedene Ansätze: ein abwartendes Verhalten mit erneuter Untersuchung nach sechs Monaten oder eine gewebeschonende operative Therapie.

Die Patientinnen wurden darüber aufgeklärt, dass die NIPP-Behandlung zum Zeitpunkt der Durchführung noch experimentell war und es keine klinischen Belege für ihren therapeutischen Nutzen bei CIN1/2-Läsionen gab. Zusätzlich wurden sie über andere bereits etablierte Standardbehandlungsmöglichkeiten wie Laservaporisation oder LLETZ informiert.

Patientinnen, welche sich zur Studienteilnahme entschieden, wurden nach ausführlicher Aufklärung und schriftlicher Einwilligung in die Studie aufgenommen.

3.3.3 Studienvisiten

3.3.3.1 Studienvisite 1: NIPP-Behandlung

Die Patientinnen wurden sowohl klinisch als auch kolposkopisch untersucht, wobei ein Einweg-Plastikspekulum verwendet wurde. Um Läsionen sichtbar zu machen, wurde die Portiooberfläche zunächst mit vier-prozentiger Essigsäurelösung und anschließend mit Lugolscher-Iod-Lösung betupft. Die nun sichtbare(n) CIN 1/2 Läsion(en) wurden mittels gleichmäßiger mäanderförmiger Bewegungen („Pinselstriche“) in einem konstanten Abstand von 7-10mm für 30s/cm² behandelt. Die Behandlung erfolgte in einem gynäkologischen Standarduntersuchungsraum unter kolposkopischer Sicht mit prä- und postinterventioneller Fotodokumentation.

Die spezielle vordefinierte Applikationsform hatte zum Ziel, eine lokale Überwärmung des Gewebes zu vermeiden. Die Behandlung wurde ambulant und ohne lokale oder allgemeine Anästhesie durchgeführt.

3.3.3.2 Studienvisite 2: Erster Nachuntersuchungstermin nach 2-3 Wochen

Die zweite Studienvisite wurde zwei bis drei Wochen nach der NIPP-Behandlung terminiert. Während des ersten Nachuntersuchungstermins erfolgte die Befragung nach beobachteten Auffälligkeiten seitens der Patientinnen, eine zytologische Diagnostik sowie eine kolposkopische Untersuchung samt Färbetechniken. Während der Kolposkopie lag ein besonderes Augenmerk auf möglichen Hautreizungen, Rötungen oder anderweitigen Veränderungen des behandelten Bereiches. Die T-Zone wurde beurteilt und eine fotografische Dokumentation durchgeführt. Abschließend erfolgte eine erneute venöse Blutentnahme.

3.3.3.3 Studienvisite 3: Zweiter Nachuntersuchungstermin nach 3 Monaten

Im Rahmen der dritten Studienvisite nach drei Monaten wurde die zweite Nachuntersuchung durchgeführt.

Zusätzlich zu den Maßnahmen der zweiten Studienvisite wurden hier unter kolposkopischer Sicht Gewebeproben der Portio uteri nach entsprechenden Färbungen

entnommen. Diese Proben wurden je nach Abwägung des Pathologischen Instituts in Tübingen zur besseren Beurteilbarkeit zusätzlich immunhistochemischen Färbungen mittels p16^{INK4a} unterzogen.

3.3.3.4 Studienvisite 4: Dritter Nachuntersuchungstermin nach 6 Monaten

Die vierte Studienvisite fand sechs Monate nach NIPP-Behandlung statt. Während des dritten Nachuntersuchungstermins wurde, zusätzlich zu den Untersuchungen aus der dritten Studienvisite, eine Bestimmung des HPV-Infektionsstatus durchgeführt. Abschließend wurde die Abgabe des zu Beginn ausgehändigten Fragebogens geprüft.

3.4 Materialien und Untersuchungsmethoden

3.4.1 Nicht-invasives physikalisches Plasma (NIPP)

Zur NIPP-Generierung wurde das elektrochirurgische Gerät VIO ® 3, APC 3 (Erbe Elektromedizin, Tübingen, Deutschland) unter Verwendung von Argon als Trägergas sowie speziell zugeschnittenen Einstellungen (Argon-Gasfluss: 1,6 L/min; preciseAPC-Einstellung, Effekt 1) verwendet.

3.4.2 Histologische und immunhistochemische Diagnostik

Es wurden Gewebeproben per Knipsbiopsie aus auffällig anmutenden Arealen entnommen. Die formalinfixierten, paraffineingebetteten Biopsieproben (FFPE) wurden gemäß der Standardprotokolle in der Abteilung für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie der Eberhard Karls Universität Tübingen untersucht und befundet.

Die p16^{INK4a}-Immunhistochemie (monoklonaler Antikörper bei einer Titration von 1:2000, Abcam Ab108349) wurde ebenfalls in der Abteilung für Pathologie und Neuropathologie der Eberhard Karls Universität Tübingen durchgeführt.

3.4.3 Zytologische Diagnostik

Zytologische Abstriche wurden routinemäßig im Labor für Immunzytologie der Abteilung für Frauengesundheit der Eberhard Karls Universität Tübingen untersucht und befundet. Die Routinefärbung der zytologischen Abstriche erfolgte nach Papanicolaou (PAP). Zur Klassifikation der Befunde wurde die derzeit gängige Münchener Nomenklatur III verwendet.

3.4.4 Kolposkopische Diagnostik

Zur kolposkopischen Diagnostik wurde die VITOM® Optik der Firma Storz (Tuttlingen, Deutschland) verwendet. Im Anschluss an die native Betrachtung der vergrößerten Portiooberfläche erfolgte zunächst das Betupfen der Portio uteri mit 4%iger Essigsäurelösung (Hersteller: Universitätsapotheke Tübingen). Anschließend erfolgte eine Färbung mit 5%iger Logolscher Iodlösung (Hersteller: Universitätsapotheke Tübingen). Die Befunde wurden von geschulten zertifizierten Gynäkologen erhoben und nach der kolposkopischen IFCPC (The International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy) klassifiziert. Auffällige Areale wurden biopsiert und der histologischen Diagnostik zugeführt.

3.4.5 Virusdiagnostik

Die HPV-Diagnostik wurde mit dem Digene Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test (HC2; Qiagen Inc., Hilden Deutschland) in der Abteilung Medizinische Virologie der Eberhard Karls Universität Tübingen durchgeführt. Dieser Test dient dem Nachweis von 13 Hochrisiko-HPV-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 und 68) sowie von fünf Niedrigrisiko-HPV-Typen (6, 11, 42, 43 und 44).

Der Test ermöglicht den Nachweis einer Infektion mit den oben genannten Viren in Bezug auf ihre Risikoklassifikation. Es findet weder eine Typisierung der einzelnen HPV-Typen noch eine Aussage über die Viruslast statt.

3.5 Fragebogen

Jede Patientin, die mit NIPP behandelt wurde, erhielt postinterventionell einen Fragebogen, der sich auf die NIPP-Behandlung bezog und den sie im Verlauf des Beobachtungszeitraums ausgefüllt zurückgeben sollte.

Der Fragebogen basierte auf dem Freiburger Index für Patientenzufriedenheit (FIBS: Freiburg Index of Patient Satisfaction). Neben der fünf Items, welche zur Erfassung der behandlungsbezogenen Patientenzufriedenheit nach interventionellen und operativen Eingriffen entwickelt wurden, wurde der Fragebogen um weitere sechs Items ergänzt. Die neu hinzugefügten Items bezogen sich vor allem auf das Schmerzempfinden der Patientinnen vor, während und nach der Behandlung. Außerdem wurden die Patientinnen nach beobachteten Nebenwirkungen befragt.

Das Schmerzempfinden sollte anhand einer visuellen Analogskala von 0-10 bewertet werden. Werte von 0-1 wurden als "keine Schmerzen", 2-4 als "leichte Schmerzen", 5-7 als "mittlere Schmerzen" und 8-10 als "starke Schmerzen" definiert. Andere Nebenwirkungen wurden als Freitext erfasst. Die Behandlungszufriedenheit nach der NIPP-Behandlung wurde orientierend am FIBS (111) bewertet.

3.6 Klinische Endpunkte

Das Forschungsprojekt zielt darauf, die antineoplastische Wirksamkeit von NIPP auf CIN1/2 zu untersuchen und zu beurteilen. Das angestrebte primäre Ziel für die Patientinnen ist eine histologische Komplettremission. Zusätzlich werden sekundäre Ziele für die Patientinnen angestrebt, wie zum Beispiel eine partielle histologische Remission der CIN2, die Verminderung der hrHPV-Viruslast sowie eine Linderung der Schmerzen und Verbesserung der Lebensqualität.

Die Studie dient ebenfalls dazu, die NIPP-Behandlung zu untersuchen und eine mögliche Aussage über Gewebetoleranz und Verträglichkeit zu treffen.

Die nachfolgende Tabelle 1 veranschaulicht die primären und sekundären Endpunkte dieser Studie.

Tabelle 1: Übersicht über die primären und sekundären Endpunkte der vorliegenden Studie

Primäre Endpunkte	- histologische Komplettremission der CIN1/2
Sekundäre Endpunkte	- partielle histologische Remission der CIN2 - verminderte hrHPV-Viruslast - Auswirkungen auf die Lokalisation der T-Zone - Gewebetoleranz und Verträglichkeit der Plasmabehandlung - Schmerzen und Lebensqualität

3.7 Datenerfassung

Eine retrospektive Datenerhebung erfolgte aus den Patientenakten des Departments für Frauengesundheit in Tübingen. Die Erfassung der erhobenen Daten wurde mithilfe von SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt.

3.8 Statistik

Die statistischen Vergleiche zwischen unabhängigen Stichproben (Kontrollgruppe vs. NIPP-Gruppe) wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt, während Vergleiche innerhalb einer Gruppe (Kontrollgruppe vs. Kontrollgruppe oder NIPP-Gruppe vs. NIPP-Gruppe) mittels des asymptotischen Wilcoxon-Tests untersucht wurden. Zur Bewertung des HPV-Infektionsstatus vor und nach der Behandlung wurde der McNemar-Test verwendet. Alle Tests wurden mithilfe von SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt, wobei p-Werte von $< 0,05$ als statistisch signifikant betrachtet wurden.

4 Ergebnisse

Insgesamt wurden 63 Patientinnen im Zeitraum von September 2017 bis März 2022 mit NIPP therapiert. Die retrospektiv erfasste Kontrollgruppe umfasste 287 Patientinnen, die im Zeitraum von September 2017 bis März 2022 in der Dysplasiesprechstunde aufgrund von CIN1/2-Läsionen behandelt wurden.

Das nachfolgende CONSORT-Flussdiagramm in Abbildung 5 veranschaulicht die Zusammensetzung der Studienpopulation in der NIPP-Gruppe während des Beobachtungszeitraums.

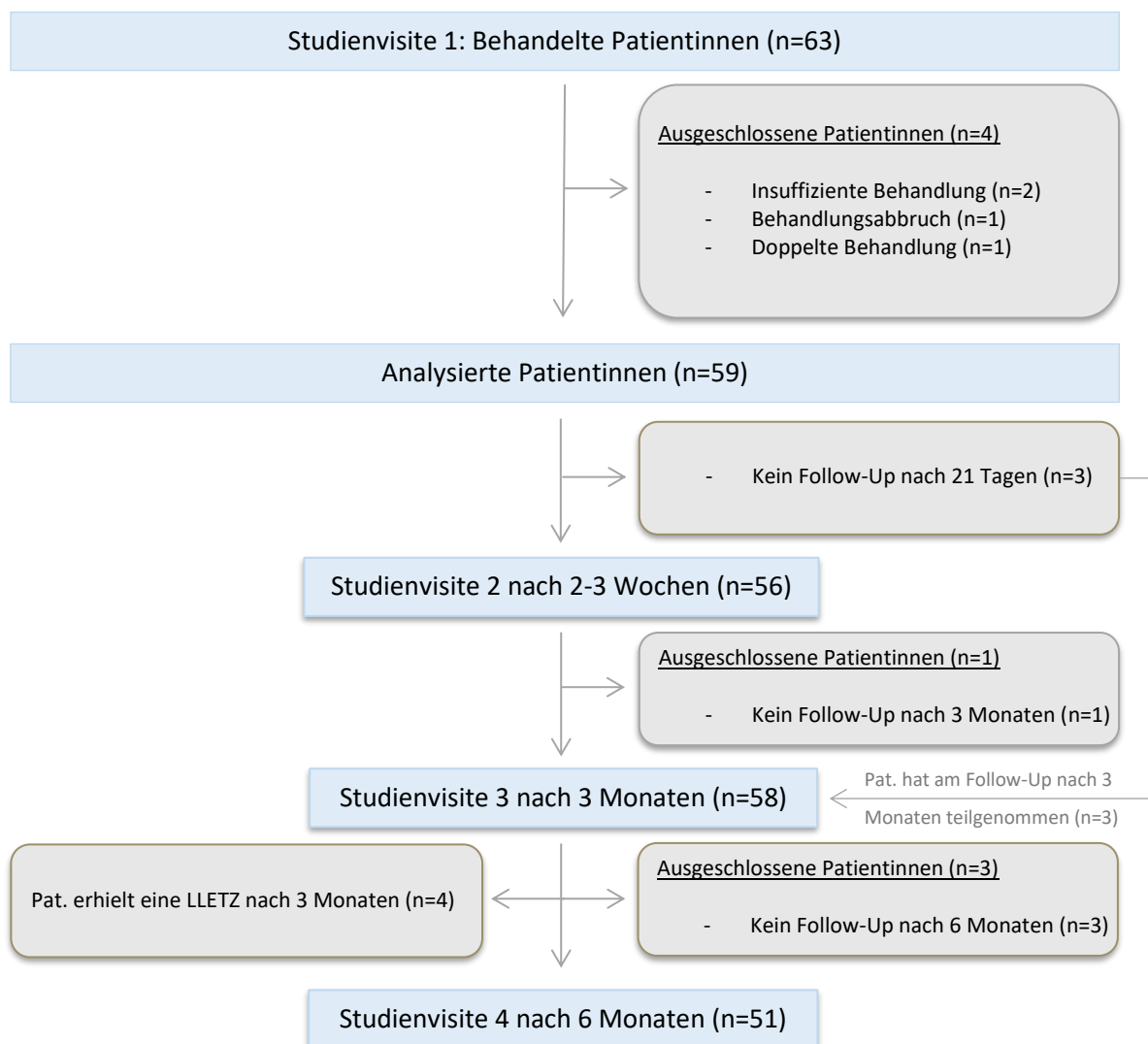


Abbildung 5: CONSORT Flussdiagramm der NIPP-Gruppe

Abbildung 5 zeigt, dass insgesamt 63 Patientinnen in die NIPP-Gruppe der Studie eingeschlossen und behandelt wurden. In die vorliegende Auswertung gingen die Daten von 59 Patientinnen ein. Zwei Patientinnen wurden aufgrund einer insuffizienten Behandlung von weniger als 30s/cm² beziehungsweise weniger als die zuvor festgelegte Mindestdosierung von vier Behandlungszyklen über 30 Sekunden aus der Studie ausgeschlossen. Eine weitere Patientin konnte die Behandlung nicht tolerieren, sodass diese abgebrochen wurde. Bei einer Patientin wurde die Behandlung zweimal durchgeführt; jedoch wurde die zweite Behandlung bei der Analyse nicht berücksichtigt.

Das nachfolgende CONSORT-Flussdiagramm in Abbildung 6 stellt die Studienpopulation der Kontrollgruppe im Verlauf des Beobachtungszeitraums dar.

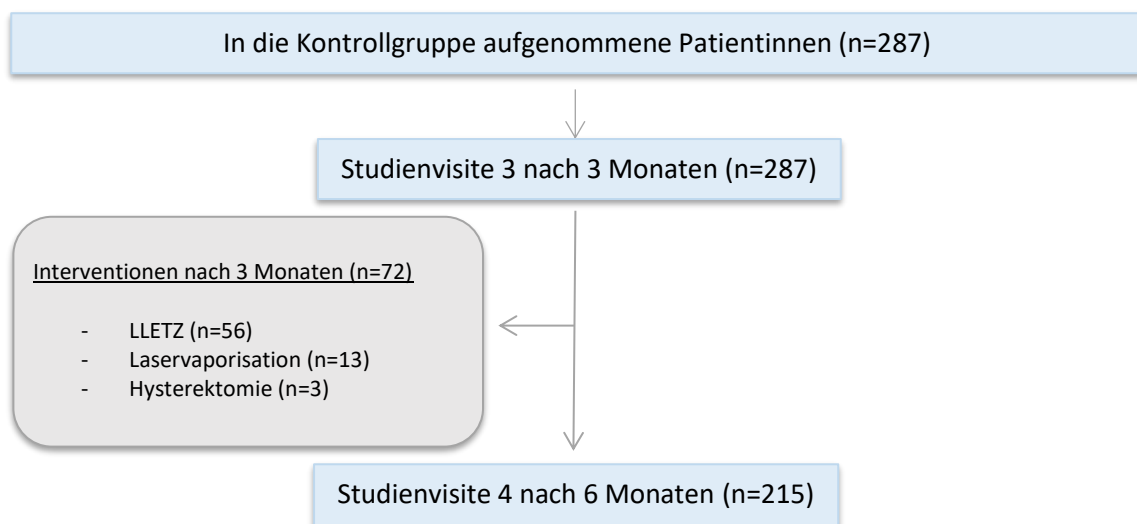


Abbildung 6: CONSERT-Flussdiagramm der Kontrollgruppe

Insgesamt wurden 287 Patientinnen in die Kontrollgruppe der Studie eingeschlossen und über einen Zeitraum von sechs Monaten beobachtet.

4.1 Teilnahme an den Studienvisiten innerhalb der NIPP-Gruppe

Zur Evaluierung der Wirksamkeit der NIPP-Behandlung wurden die Teilnehmerinnen aufgefordert, an insgesamt drei Studienvisiten nach der NIPP-Anwendung teilzunehmen. Die Ergebnisse der Teilnahme an den Nachuntersuchungsterminen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Teilnahme an den Nachuntersuchungsterminen innerhalb der NIPP-Gruppe

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Studienvisite 2 (n=59)	Lost of Follow-up	3 (5,1)	1 (4,5)	2 (5,4)
	Follow-up	56 (94,9)	21 (95,5)	35 (94,6)
Studienvisite 3 (n=59)	Lost of Follow-up	1 (1,7)	1 (4,5)	0 (0,0)
	Follow-up	58 (98,3)	21 (95,5)	37 (100,0)
Studienvisite 4 (n=55)	Lost of Follow-up	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
	Follow-up	51 (92,7)	20 (95,2)	31 (91,2)

Der erste Nachuntersuchungstermin im Rahmen der zweiten Studienvisite wurde zwei bis drei Wochen nach der NIPP-Behandlung angesetzt. Insgesamt nahmen 56 Patientinnen (94,9%) an diesem Termin teil. Die drei Patientinnen, die zur ersten Nachuntersuchung nicht erschienen, wurden in der dritten Studienvisite wieder in die Studienkohorte aufgenommen.

Drei Monate nach der NIPP-Behandlung fand die zweite Nachuntersuchung im Rahmen der dritten Studienvisite statt. Hieran nahmen 58 Patientinnen (98,3%) teil. Eine Patientin (1,7%) erschien weder zu diesem noch zu den folgenden Terminen und wurde daher in der Studie als „lost of Follow-up“ klassifiziert. Aufgrund auffälliger zytologischer und histologischer Befunde erhielten vier Patientinnen eine Intervention in Form einer LLETZ mit CK-Abrasio. Nach der durchgeführten Intervention wurden diese vier Patientinnen nicht zur vierten Studienvisite eingeladen.

Sechs Monate nach der NIPP-Behandlung wurde die dritte Nachuntersuchung im Rahmen der vierten Studienvisite durchgeführt. Von den 55 verbliebenen Patientinnen nahmen 51 (92,7%) an dieser Nachuntersuchung teil.

4.2 Patientenkollektiv

Zu Beginn der Studie wurden relevante Informationen über die Patientinnen im Rahmen eines Anamnesegesprächs erhoben. Neben dem Alter wurden auch Gravidität und Parität erfasst. Zudem wurde die Dauer des bestehenden auffälligen zytologischen Befundes sowie mögliche vorherige Interventionen dokumentiert.

4.2.1 Altersstruktur der Patientinnen

CIN betreffen vor allem jüngere Frauen. Sowohl in der NIPP-Gruppe als auch in der retrospektiv erhobenen Kontrollgruppe wurde das Alter der Patientinnen zum Aufnahmezeitpunkt erfasst. Tabelle 3 veranschaulicht die Altersverteilung innerhalb beider Gruppen.

Tabelle 3: Altersverteilung innerhalb NIPP- und Kontrollgruppe vor Studienbeginn

		Gesamt	CIN1	CIN2
Altersverteilung der NIPP- Gruppe (n=63)	Mittelwert	30,1	31,7	29,1
	Standardabweichung	6,9	8,8	5,3
	Minimum	21	21	21
	Maximum	59	59	47
	Perzentil 25	25,0	24,0	25,5
	Median	29,0	31,0	28,0
	Perzentil 75	33,0	37,0	31,0
Altersverteilung der Kontrollgruppe (n=287)	Mittelwert	34,7	36,3	30,5
	Standardabweichung	11,4	12,4	6,9
	Minimum	18	19	18
	Maximum	76	76	47
	Perzentil 25	26,0	26,0	26,0
	Median	31,0	33,0	29,0
	Perzentil 75	41,0	43,0	35,0

Das Durchschnittsalter der NIPP-Gruppe betrug 30,1 Jahre ($\pm 6,9$) und lag damit etwa fünf Jahre unter dem Durchschnittsalter der Kontrollgruppe (34,7 Jahre ($\pm 11,4$)). Die jüngste Patientin der NIPP-Gruppe war mit 21 Jahren drei Jahre älter als die jüngste Patientin der Kontrollgruppe. Die älteste Patientin der NIPP-Gruppe war mit 59 Jahren 17 Jahre jünger als die älteste Patientin der Kontrollgruppe.

Ein Vergleich der Subgruppe CIN1 zeigt, dass das Durchschnittsalter der NIPP-Gruppe zu Behandlungsbeginn bei 31,7 Jahren ($\pm 8,8$) lag, wobei die Altersverteilung zwischen 21 und 59 Jahren lag. In der Kontrollgruppe waren die Patientinnen zum Ausgangszeitpunkt durchschnittlich 36,3 Jahre ($\pm 12,4$) alt, mit einer Altersverteilung von 19 bis 76 Jahren.

Bei der Subgruppe CIN2 betrug das Durchschnittsalter innerhalb der NIPP-Gruppe 29,1 Jahre ($\pm 5,3$). Die jüngste Patientin war zum Behandlungszeitpunkt 21 Jahre, die älteste 47 Jahre alt. Die Patientinnen der Kontrollgruppe waren mit einem Durchschnittsalter von 30,5 Jahren ($\pm 6,9$) ebenfalls kaum älter. Die jüngste Patientin in der Kontrollgruppe war zu Beginn des Beobachtungszeitraums 18 Jahre, während die älteste Patientin 47 Jahre alt war. Die Kohorte der Patientinnen CIN2 zeigt eine hohe altersabhängige Vergleichbarkeit zwischen der NIPP- und der Kontrollgruppe.

Zur besseren Veranschaulichung wurden die Patientinnen in Tabelle 4 in Altersgruppen zusammengefasst.

Tabelle 4: Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen sortiert nach Altersgruppen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Altersverteilung NIPP- Gruppe in Kategorien (n=63)	20-29 Jahre	35 (55,6)	11 (47,8)	24 (60,0)
	30-39 Jahre	22 (34,9)	8 (34,8)	14 (35,0)
	40-49 Jahre	5 (7,9)	3 (13,0)	2 (5,0)
	50-59 Jahre	1 (1,6)	1 (4,3)	0 (0,0)
Altersverteilung Kontroll- gruppe in Kategorien (n=287)	18-19 Jahre	3 (1,0)	1 (0,5)	2 (2,5)
	20-29 Jahre	116 (40,4)	76 (36,9)	40 (49,4)
	30-39 Jahre	90 (31,4)	60 (29,1)	30 (37,0)
	40-49 Jahre	46 (16,0)	37 (18,0)	9 (11,1)
	50-59 Jahre	18 (6,3)	18 (8,7)	0 (0,0)
	60-69 Jahre	11 (3,8)	11 (5,3)	0 (0,0)
	70-79 Jahre	3 (1,0)	3 (1,5)	0 (0,0)

Tabelle 4 zeigt, dass über die Hälfte der NIPP-behandelten Patientinnen (55,6%) vor der Behandlung unter 30 Jahren alt waren. Mehr als ein Drittel der Patientinnen (34,9%) befand sich im Altersbereich von 30 bis 39 Jahren, während sechs Patientinnen (9,5%)

zum Zeitpunkt der Behandlung über 40 Jahre alt waren. Insgesamt waren über 90 Prozent der Patientinnen in der NIPP-Gruppe zum Zeitpunkt der Behandlung jünger als 40 Jahre.

In der Kontrollgruppe war ebenfalls ein erheblicher Anteil der Patientinnen (40,4%) zwischen 20 und 29 Jahren alt. Mehr als 30 Prozent der Patientinnen gehörten zur Altersgruppe von 30 bis 39 Jahren. Weitere 16 Prozent der Patientinnen lagen im Altersbereich von 40 bis 49 Jahren. Zu Beginn des Beobachtungszeitraums waren 18 Patientinnen (6,3%) zwischen 50 und 59 Jahren alt. Im Vergleich zur NIPP-Gruppe wiesen in der Kontrollgruppe drei Patientinnen (1,0%) ein Alter unter 20 Jahren auf, während 14 Patientinnen (4,8%) älter als 60 Jahre waren.

4.2.2 Gravidität und Parität der NIPP-Gruppe

Im Rahmen des Anamnesegesprächs wurden auch Informationen über frühere Schwangerschaften und deren Anzahl erhoben. Die durchschnittliche Anzahl an Graviditäten in der NIPP-behandelten Gruppe ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Erfasste Graviditäten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn

		Gesamt (n=51)	CIN1 (n=17)	CIN2 (n=34)
Verteilung bisheriger Graviditäten NIPP-Gruppe	Mittelwert	0,7	0,7	0,7
	Standardabweichung	1,0	1,0	1,1
	Minimum	0	0	0
	Maximum	4	3	4
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	0,0	0,0	0,0
	Perzentil 75	1,0	1,0	1,0

Bei 51 der 63 Patientinnen (81,0%) konnten Daten zu vorangegangenen Schwangerschaften erhoben werden. Unabhängig vom Schweregrad der zervikalen Dysplasien betrug die durchschnittliche Anzahl an Graviditäten 0,7 ($\pm 1,0$) pro Patientin, mit einer Spannweite von null bis vier Graviditäten. Die Anzahl der vorangegangenen Graviditäten ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Anzahl bisheriger Graviditäten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn

		Gesamt (n=51)	CIN1 (n=17)	CIN2 (n=34)
		n (%)	n (%)	n (%)
Anzahl bisheriger Graviditäten NIPP-Gruppe	0	32 (62,7)	10 (58,8)	22 (64,7)
	1	8 (15,7)	3 (17,6)	5 (14,7)
	2	7 (13,7)	3 (17,6)	4 (11,8)
	3	3 (5,9)	1 (5,9)	2 (5,9)
	4	1 (2,0)	0 (0,0)	1 (2,9)

Der Großteil der Patientinnen (62,7%) war vor NIPP-Behandlung nullgravida. Acht Patientinnen (15,7%) waren bisher einmal, sieben Patientinnen (13,7%) zweimal, drei Patientinnen (5,9%) dreimal und eine Patientin (2,0%) bereits viermal schwanger gewesen.

Zusätzlich zu den Angaben zur Gravidität wurden im Anamnesegespräch auch Daten zur Parität erhoben. Tabelle 7 zeigt die durchschnittliche Anzahl an vorangegangenen Geburten in der NIPP-behandelten Gruppe.

Tabelle 7: Erfasste Geburten innerhalb der NIPP-Gruppe vor Studienbeginn

		Gesamt (n=51)	CIN 1 (n=17)	CIN 2 (n=34)
Verteilung bisheriger Geburten innerhalb der NIPP-Gruppe	Mittelwert	0,7	0,7	0,6
	Standardabweichung	1,1	1,0	1,1
	Minimum	0	0	0
	Maximum	4	3	4
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	0,0	0,0	0,0
	Perzentil 75	1,0	1,0	1,0

Bei 51 der 63 Patientinnen (81,0%) konnten Informationen zur Parität erfasst werden. Wie bei den Schwangerschaften lag der Mittelwert der vorangegangenen Geburten bei 0,7 ($\pm 1,1$), mit einer Spannweite von null bis vier. Tabelle 8 bietet eine detaillierte Übersicht der durchschnittlichen Anzahl an Geburten nach Geburtenzahl.

Tabelle 8: Anzahl der Geburten vor Studienbeginn

		Gesamt (n=51)	CIN1 (n=17)	CIN2 (n=34)
		n (%)	n (%)	n (%)
Anzahl bisheriger Geburten	0	33 (64,7)	10 (58,8)	23 (67,6)
innerhalb der NIPP-Gruppe	1	7 (13,7)	3 (17,6)	4 (11,8)
	2	7 (13,7)	3 (17,6)	4 (11,8)
	3	3 (5,9)	1 (5,9)	2 (5,9)
	4	1 (2,0)	0 (0,0)	1 (2,9)

Insgesamt waren 33 Patientinnen (64,7%) zum Zeitpunkt der Behandlung nullipara. Jeweils sieben Patientinnen (13,7%) gaben an, zwei beziehungsweise drei vorangegangene Geburten gehabt zu haben. Drei Patientinnen (5,9%) hatten bisher drei Kinder zur Welt gebracht, während eine Patientin (2,0%) bereits vier Kinder geboren hatte.

4.2.3 Präinterventioneller Zeitraum des auffälligen PAP-Abstrichs

Im Rahmen des Erstkontakts wurde erfragt, wie lange der auffällige zytologische Befund bereits bekannt war. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Dauer des beobachteten auffälligen PAP-Abstrichs

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
> 3 Monate (n=62)	nein	1 (1,6)	1 (4,3)	0 (0,0)
	ja	61 (98,4)	22 (95,7)	39 (100,0)
> 1 Jahr (n=57)	nein	8 (14,0)	3 (15,8)	5 (13,2)
	ja	49 (86,0)	16 (84,2)	33 (86,8)
> 2 Jahre (n=57)	nein	20 (35,1)	7 (36,8)	13 (34,2)
	ja	37 (64,9)	12 (63,2)	25 (65,8)

Bei einer Patientin (1,6%) betrug die Dauer des bekannten auffälligen Abstrichs vor der NIPP-Behandlung weniger als drei Monate. Zwölf Patientinnen (21,0%) wiesen zu Studienbeginn einen auffälligen PAP-Befund auf, der zwischen ein und zwei Jahren bestand. 37 Patientinnen (64,9%) hatten zu Studienbeginn einen PAP-Befund, der bereits über zwei Jahre als auffällig galt.

4.2.4 Vorangegangene Interventionen vor Studienbeginn

Wie aus Tabelle 9 hervorgeht, hatten die meisten Patientinnen bereits seit mehreren Jahren auffällige zytologische Befunde. Im nächsten Schritt wurde erfragt, ob bei den Patientinnen in der Vergangenheit bereits Behandlungsversuche, wie beispielsweise eine LLETZ oder Laservaporisation, unternommen wurden. Tabelle 10 zeigt die bisherigen Interventionen aufgrund auffälliger zytologischer beziehungsweise histologischer Befunde.

Tabelle 10: Bisherige Interventionen aufgrund auffälliger zytologischer oder histologischer Befunde innerhalb der NIPP-Gruppe

		Gesamt (n=63)	CIN1 (n=23)	CIN2 (n=40)
		n (%)	n (%)	n (%)
Interventionen vor NIPP- Behandlung	Ja	2 (3,2)	0 (0,0)	2 (5,0)
	nein	61 (96,8)	23 (100,0)	38 (95,0)

Zwei der 63 Patientinnen (3,2%) gaben an, bereits eine Intervention in Form einer LLETZ erhalten zu haben. Bei beiden Patientinnen zeigte sich nach erfolgter LLETZ erneut eine CIN2. Der Großteil der Patientinnen (96,8%) hatte sich vor der NIPP-Behandlung keiner Intervention unterzogen, was eine unbehandelte Portio-Oberfläche für die NIPP-Behandlung zur Verfügung stellte.

4.3 Histologische Bewertung der Remissionsraten

Der primäre Endpunkt der Studie war die histologische Komplettremissionsrate von CIN1/2 nach einmaliger NIPP-Behandlung. Um diese Fragestellung zu untersuchen, wurden bei den Teilnehmerinnen während der dritten und vierten Studienvisite unter kolposkopischer Kontrolle Gewebeproben aus der Cervix uteri entnommen. Das entnommene Gewebe wurde anschließend histopathologisch sowie immunhistochemisch aufbereitet, um Veränderungen im Sinne von CIN zu detektieren.

4.3.1 Histologische Ausgangsbefunde

Insgesamt wurden 63 Patientinnen in die NIPP-Gruppe und 287 Patientinnen in die Kontrollgruppe aufgenommen. Abbildung 7 veranschaulicht die Verteilung der CIN-Schweregrade zu Beginn der Studie innerhalb der NIPP- und Kontrollgruppe.

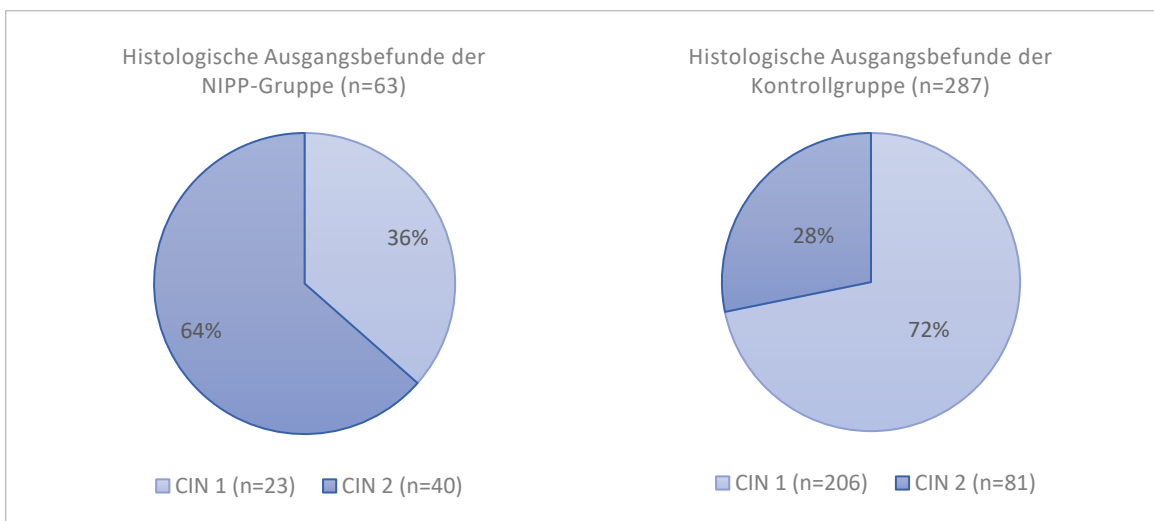


Abbildung 7: Vergleich der histologischen Ausgangsbefunde von NIPP- und Kontrollgruppe

Die NIPP-Gruppe umfasste 23 Patientinnen (36,5%) mit CIN1-Läsionen und 40 Patientinnen (63,5%) mit CIN2-Läsionen. In der Kontrollgruppe wiesen 206 Patientinnen (71,8%) CIN1-Läsionen und 81 Patientinnen (28,2%) CIN2-Läsionen auf. Der Mann-Whitney-U-Test (n = 350) ergab zu Beginn der Studie einen signifikanten Unterschied in der Verteilung der Dysplasiegrade zwischen der NIPP- und der Kontrollgruppe ($p < 0,001$).

4.3.2 Histologische Befunde nach 3 Monaten

Im Rahmen der dritten Studienvisite, drei Monate nach der NIPP-Behandlung, wurden unter kolposkopischer Sicht Gewebeproben von der Portiooberfläche der Patientinnen entnommen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Histologische Befunde nach 3 Monaten

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Befunde der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten (n=58)	Keine CIN	50 (86,2)	20 (95,2)	30 (81,1)
	CIN1	2 (3,4)	0 (0,0)	2 (5,4)
	CIN2	4 (6,9)	0 (0,0)	4 (10,8)
	CIN3	2 (3,4)	1 (4,8)	1 (2,7)
Befunde der Kontroll- gruppe nach 3 Monaten (n=287)	Keine CIN	116 (40,4)	95 (46,1)	21 (25,9)
	CIN1	87 (30,3)	75 (36,4)	12 (14,8)
	CIN2	55 (19,2)	29 (14,1)	26 (32,1)
	CIN3	29 (10,1)	7 (3,4)	22 (27,2)

Nach drei Monaten wiesen 86,2 Prozent der Patientinnen der NIPP-Gruppe keine Dysplasie auf, während dieser Wert in der Kontrollgruppe bei 40,4 Prozent lag. Bei der Subgruppe der Patientinnen mit CIN1-Läsionen zeigte sich, dass 95,2 Prozent der NIPP-Gruppe nach drei Monaten ein unauffälliges histologisches Ergebnis aufwiesen, im Vergleich zu 46,1 Prozent in der Kontrollgruppe. In der NIPP-Gruppe entwickelte eine Patientin (4,8%) und in der Kontrollgruppe sieben Patientinnen (3,4%) eine CIN3. Bei den Patientinnen mit CIN2-Läsionen wiesen in der NIPP-Gruppe 30 Patientinnen (81,1%) ein unauffälliges histologisches Ergebnis auf, was über 50 Prozent mehr war als in der Kontrollgruppe (25,9%). Darüber hinaus entwickelte eine Patientin (2,7%) in der NIPP-Gruppe eine CIN3, während dieser Wert in der Kontrollgruppe bei 27,2 Prozent lag, was einem zehnfach höheren Anteil entspricht.

4.3.2.1 Histologische Befundveränderungen nach drei Monaten

Zur Veranschaulichung der individuellen histologischen Befundveränderungen werden die dysplasiespezifischen Verläufe in Tabelle 12 dargestellt und miteinander verglichen.

Tabelle 12: Histologische Veränderungen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangswert

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
CIN-Veränderungen NIPP- Gruppe nach 3 Monaten (n= 58)	Komplettremission	50 (86,2)	20 (95,2)	27 (79,4)
	Teilremission	2 (3,4)	0 (0,0)	2 (5,9)
	Persistenz	4 (6,9)	0 (0,0)	4 (10,8)
	Progression	2 (3,4)	1 (4,8)	1 (2,7)
CIN-Veränderungen Kontrollgruppe nach 3 Monaten (n=287)	Komplettremission	116 (40,4)	95 (46,1)	21 (25,9)
	Teilremission	13 (4,5)	0 (0,0)	13 (16,0)
	Persistenz	100 (34,8)	75 (36,4)	25 (30,9)
	Progression	58 (20,2)	36 (17,5)	22 (27,2)

Tabelle 12 zeigt, dass 50 Patientinnen (86,2%) der NIPP-Gruppe nach drei Monaten eine Komplettremission aufwiesen, verglichen mit 40,4 Prozent in der Kontrollgruppe. Zudem wiesen 3,4 Prozent der NIPP-Gruppe und 20,2 Prozent der Kontrollgruppe eine Befundprogression auf. Der asymptotische Wilcoxon-Test ($n = 58$) ergab für den genannten Zeitraum eine signifikante Veränderung der histologischen Befunde in der NIPP-Gruppe ($p < 0,001$). Auch innerhalb der Subgruppen CIN1 ($n = 21$, $p < 0,001$) und CIN2 ($n = 37$, $p < 0,001$) konnten signifikante Veränderungen nachgewiesen werden. Mithilfe des asymptotischen Wilcoxon-Tests konnte ebenfalls innerhalb der Kontrollgruppe ($n = 287$) eine signifikante Änderung der histologischen Befunde nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Eine signifikante Änderung konnte mithilfe des gleichen Tests auch innerhalb der einzelnen Untergruppen CIN1 ($n = 206$, $p < 0,001$) und CIN2 ($n = 81$, $p = 0,001$) festgestellt werden.

Um die Remissionsraten nach drei Monaten zwischen NIPP- und Kontrollgruppe zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben ($n = 345$) angewandt. Die Analyse zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Remissionsraten von NIPP- und Kontrollgruppe ($p < 0,001$), was sich ebenfalls in den Subgruppen CIN1 ($n = 227$, $p < 0,001$) und CIN2 ($n = 118$, $p < 0,001$) widerspiegelte.

4.3.3 Histologische Befunde nach 6 Monaten

Im Zeitraum zwischen der dritten und vierten Studienvsiste kam es sowohl in der NIPP- als auch in der Kontrollgruppe aufgrund individueller Risikoabwägungen zu

Interventionen aufgrund zytologischer und histologischer Auffälligkeiten. Da das primäre Ziel der Studie darin bestand, die Wirkung von NIPP auf CIN1/2 zu untersuchen, wurden erforderliche Interventionen in die Auswertung einbezogen. Tabelle 13 illustriert die histologischen Befunde nach sechs Monaten sowie die zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Interventionen.

Tabelle 13: Histologische Befunde nach 6 Monaten im Vergleich zum Ausgangswert unter Berücksichtigung erfolgter Interventionen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Befunde der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten sowie erfolgte Interventionen (n= 55)	Keine CIN	44 (80,0)	18 (85,7)	26 (76,5)
	CIN1	2 (3,6)	1 (4,8)	1 (2,9)
	CIN2	2 (3,6)	0 (0,0)	2 (5,9)
	CIN3	3 (5,5)	1 (4,8)	2 (5,9)
	Intervention	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
Befunde der Kontroll- gruppe nach 6 Monaten sowie erfolgte Interventionen (n= 287)	Keine CIN	129 (44,9)	107 (51,9)	22 (27,2)
	CIN1	46 (16,0)	39 (18,9)	7 (8,6)
	CIN2	27 (9,4)	17 (8,3)	10 (12,3)
	CIN3	13 (4,5)	4 (1,9)	9 (11,1)
	Intervention	72 (25,1)	39 (18,9)	33 (40,7)

Aus Tabelle 13 geht hervor, dass 44 von 55 Patientinnen (80%) der NIPP-Gruppe nach sechs Monaten keine histologischen Auffälligkeiten mehr aufwiesen, während dieser Wert in der Kontrollgruppe mit 44,9 Prozent etwa bei der Hälfte lag. In der NIPP-Gruppe waren Interventionen bei vier Patientinnen (7,3%) erforderlich, während in der Kontrollgruppe etwa ein Viertel der Patientinnen (25,1%) eine Intervention benötigte. Der Anteil unauffälliger histologischer Befunde nach sechs Monaten war in beiden Subgruppen innerhalb der NIPP-Gruppe höher als in der Kontrollgruppe. Bei den Patientinnen mit CIN1-Läsionen zeigte sich in der NIPP-Gruppe ein unauffälliges histologisches Ergebnis bei 85,7 Prozent, während dieser Wert in der Kontrollgruppe bei 51,9 Prozent lag. Bei Patientinnen mit CIN2-Läsionen wiesen 76,5 Prozent der NIPP-Gruppe und 27,2 Prozent der Kontrollgruppe ein unauffälliges Ergebnis auf. In Bezug auf erforderliche Interventionen zeigte sich jedoch ein anderes Bild. In der Subgruppe CIN1 wurde bei einer Patientin (4,8%) der NIPP-Gruppe und bei 39 Patientinnen (18,9%) der Kontrollgruppe eine Intervention erforderlich. In der Subgruppe CIN2 wurde bei drei

Patientinnen (8,8%) der NIPP-Gruppe eine Intervention durchgeführt, während der Anteil in der Kontrollgruppe bei 40,7 Prozent lag.

4.3.3.1 Histologische Befundveränderungen nach 6 Monaten

Um die individuellen histologischen Befundveränderungen besser darzustellen, werden die spezifischen Verläufe in Tabelle 14 verglichen.

Tabelle 14: Histologische Veränderungen nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangswert unter Berücksichtigung erfolgter Interventionen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
CIN-Veränderungen NIPP-Gruppe nach 6 Monaten sowie erfolgte Interventionen (n= 55)	Komplettremission	44 (80,0)	18 (85,7)	26 (76,5)
	Teilremission	1 (1,8)	0 (0,0)	1 (2,9)
	Persistenz	3 (5,5)	1 (4,8)	2 (5,9)
	Progression	3 (5,5)	1 (4,8)	2 (5,9)
	Intervention	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
CIN-Veränderungen Kontrollgruppe nach 6 Monaten sowie erfolgte Interventionen (n= 287)	Komplettremission	129 (44,9)	107 (51,9)	22 (27,2)
	Teilremission	7 (2,4)	0 (0,0)	7 (8,6)
	Persistenz	50 (17,4)	40 (19,4)	10 (12,3)
	Progression	29 (10,1)	20 (9,7)	9 (11,1)
	Intervention	72 (25,1)	39 (18,9)	33 (40,7)

Gemäß den Daten in Tabelle 14 zeigten 44 Patientinnen (80,0%) der NIPP-Gruppe nach einem Zeitraum von sechs Monaten eine histologische Komplettremission. Im Vergleich dazu betrug dieser Wert in der Kontrollgruppe 44,9 Prozent. Zudem ist festzustellen, dass in der NIPP-Gruppe 5,5 Prozent und in der Kontrollgruppe 10,1 Prozent der Patientinnen eine Progression der Befunde aufwiesen.

Der asymptotische Wilcoxon-Test (n = 55) ergab für die NIPP-Gruppe eine signifikante Veränderung der histologischen Befunde im genannten Zeitraum ($p < 0,001$). Eine signifikante Veränderung wurde ebenfalls in den Untergruppen CIN1 (n = 21, $p = 0,007$) und CIN2 (n = 34, $p = 0,001$) festgestellt. Des Weiteren zeigte der asymptotische Wilcoxon-Test auch innerhalb der Kontrollgruppe (n = 287) eine signifikante Veränderung der histologischen Befunde ($p = 0,007$). Innerhalb der Untergruppe CIN1 (n = 206) wurde jedoch keine signifikante Änderung festgestellt ($p = 0,581$), während in

der Untergruppe CIN2 (n = 81) eine signifikante Änderung ($p < 0,001$) nachgewiesen werden konnte.

Um die Remissionsraten nach sechs Monaten zwischen der NIPP-Gruppe und der Kontrollgruppe zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben (n = 342) herangezogen. Die Analyse ergab signifikante Unterschiede in den Remissionsraten der NIPP-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Diese signifikanten Unterschiede waren auch in den Untergruppen CIN1 (n = 227, $p = 0,005$) und CIN2 (n = 115, $p < 0,001$) ersichtlich.

4.3.4 Gesamtbeurteilung des Verlaufs der histologischen Befunde innerhalb der NIPP-Gruppe

Abschließend wurde untersucht, zu welchem Zeitpunkt der Studie der größte Effekt in Bezug auf die histologischen Befundveränderungen festgestellt werden konnte. Hierzu wurde der Friedman-Test (n = 55) angewendet, der signifikante Unterschiede zwischen den drei Messzeitpunkten (Behandlungsbeginn, drei Monate nach der Behandlung und sechs Monate nach der Behandlung) zeigte ($p < 0,001$). Die anschließenden Post-hoc-Analysen (Dunn-Bonferroni-Tests) ergaben, dass die histologischen Ausgangsbefunde signifikant von den Befunden drei Monate nach NIPP-Behandlung abwichen ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,17$, geringe Effektstärke). Eine leicht reduzierte Effektstärke wurde zwischen den histologischen Ausgangsbefunden und den Befunden sechs Monate nach erfolgter NIPP-Behandlung beobachtet ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,14$, geringe Effektstärke). Zudem wiesen die histologischen Befunde drei Monate nach NIPP-Behandlung keine signifikanten Unterschiede zu den Befunden nach sechs Monaten auf ($p = 0,819$). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in den Subgruppen CIN1 und CIN2 festgestellt.

4.3.4.1 Gesamtbeurteilung in der Gruppe „CIN1 zum Ausgangszeitpunkt“

Die Anwendung des Friedman-Tests bei Patientinnen mit CIN1-Läsionen vor der NIPP-Behandlung (n = 21) ergab signifikante Unterschiede über die beobachteten Messzeitpunkte ($p < 0,001$). Die nachfolgenden Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests)

zeigten, dass sich die histologischen Ausgangsbefunde signifikant von den Befunden drei Monate nach NIPP-Behandlung unterschieden ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,30$, mittlere Effektstärke). Eine leicht reduzierte Effektstärke war zwischen den histologischen Ausgangsbefunden und den Befunden sechs Monate nach der NIPP-Behandlung zu verzeichnen ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,25$, geringe Effektstärke). Die histologischen Befunde drei Monate nach NIPP-Behandlung unterschieden sich nicht signifikant von den Befunden nach sechs Monaten ($p = 1,000$).

4.3.4.2 Gesamtbeurteilung in der Gruppe „CIN2 zum Ausgangszeitpunkt“

Der Friedman-Test ergab bei Patientinnen mit CIN2-Läsionen vor der NIPP-Behandlung ($n = 34$) signifikante Unterschiede über die beobachteten Messzeitpunkte ($p < 0,001$). Die anschließenden Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten signifikante Unterschiede zwischen den histologischen Ausgangsbefunden und den Befunden drei Monate nach NIPP-Behandlung ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,21$, geringe Effektstärke). Eine leicht reduzierte Effektstärke wurde ebenfalls zwischen den histologischen Ausgangsbefunden und den Befunden sechs Monate nach NIPP-Behandlung festgestellt ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,17$, geringe Effektstärke). Die histologischen Befunde drei Monate nach NIPP-Behandlung zeigten keine signifikanten Unterschiede zu den Befunden nach sechs Monaten ($p = 1,000$).

4.3.5 Vergleich der histologischen Verläufe zwischen NIPP-Gruppe, Kontrollgruppe und Literatur

Abschließend wurde untersucht, ob sich die beobachteten histologischen Remissionsraten aus NIPP- und Kontrollgruppe von den Angaben der Literatur (8) unterscheiden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Vergleich der histologischen Verläufe zwischen NIPP-Gruppe, Kontrollgruppe und Literaturwerten

		CIN1			CIN2		
		NIPP (%)	Kontrolle (%)	Literatur (%)	NIPP (%)	Kontrolle (%)	Literatur (%)
Histologische Befunde nach 6 Monaten	Remission	85,7	51,9	60	79,4	35,8	40
	Persistenz	4,8	19,4	30	5,9	12,3	40
	Progression	9,5	28,7	10	14,7	51,3	20

In Tabelle 15 sind unter dem Begriff „Remission“ sowohl vollständige als auch partielle Remissionen der histologischen Befunde zusammengefasst. Eine Verschlechterung des histologischen Befundes oder eine durchgeführte Intervention wurde unter dem Begriff „Progression“ zusammengefasst. Aus den Daten in Tabelle 15 geht hervor, dass die NIPP-Gruppe sowohl bei CIN1-Läsionen als auch bei CIN2-Läsionen über den gesamten Beobachtungszeitraum die höchsten Remissionsraten aufwies. Gleichzeitig wies die NIPP-Gruppe auch die niedrigsten Progressionsraten für CIN1/2 auf. Im Gegensatz dazu zeigten sich die geringsten Remissionsraten und die höchsten Progressionsraten in der Kontrollgruppe.

4.4 Zytologische Beurteilung der NIPP-Wirksamkeit

Im Rahmen der Studie wurden an vier vordefinierten Zeitpunkten zytologische Abstriche von der Portiooberfläche der Patientinnen der NIPP-Gruppe entnommen und einer detaillierten zytologischen Analyse unterzogen. Die zytologischen Befunde der Kontrollgruppe wurden zu drei Zeitpunkten erhoben. Im Folgenden werden die Daten aus NIPP- und Kontrollgruppe dargestellt und verglichen.

4.4.1 Zytologische Ausgangsbefunde

Im Rahmen des Erstkontakts in der Dysplasiesprechstunde der Frauenklinik Tübingen wurden sowohl in der NIPP- als auch in der Kontrollgruppe zytologische Abstriche der Portiooberfläche entnommen. Tabelle 16 bietet einen Vergleich der zytologischen Ausgangsbefunde, die während des Erstkontakts erfasst wurden.

Tabelle 16: Zytologische Ausgangsbefunde

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Zytologische Ausgangsbefunde NIPP-Gruppe (n=63)	PAP II-a	16 (25,4)	7 (30,4)	9 (22,5)
	PAP II-p	5 (7,9)	3 (13,0)	2 (5,0)
	PAP IIID1	16 (25,4)	10 (43,5)	6 (15,0)
	PAP IIID2	23 (36,5)	3 (13,0)	20 (50,0)
	PAP III-p	3 (4,8)	0 (0,0)	3 (7,5)
Zytologische Ausgangsbefunde Kontrollgruppe (n=285)	PAP II-a	49 (17,2)	38 (18,6)	11 (13,6)
	PAP II-p	41 (14,4)	35 (17,2)	6 (7,4)
	PAP IIID1	82 (28,8)	56 (27,5)	26 (32,1)
	PAP IIID2	87 (30,5)	55 (27,0)	32 (39,5)
	PAP III-p	23 (8,1)	20 (9,8)	3 (3,7)
	PAP IV-a	3 (1,1)	0 (0,0)	3 (3,7)

Bei der Erstuntersuchung wiesen 16 Patientinnen (25,4%) in der NIPP-Gruppe einen PAP II-a auf. Fünf Patientinnen (7,9%) zeigten zu Beginn einen PAP II-p. Etwa ein Viertel der Patientinnen (25,4%) wies einen PAP IIID1-Befund auf, während 36,5 Prozent einen PAP IIID2-Befund zeigten. Zudem wurde bei drei Patientinnen (4,8%) der NIPP-Gruppe vor Beginn der Therapie ein PAP III-p festgestellt. Die zytologischen Ausgangsbefunde der Kontrollgruppe konnten bei 285 von 287 Patientinnen erfasst werden. Bei 49 Patientinnen

(17,2%) lag zu Beginn ein PAP II-a vor, während 41 Patientinnen (14,4%) einen PAP II-p und 82 Patientinnen (28,8%) einen PAP IIID1-Befund aufwiesen. 87 Patientinnen (30,5%) zeigten einen PAP IIID2. Darüber hinaus wurde bei 8,1 Prozent der Patientinnen ein PAP III-p festgestellt, und bei drei Patientinnen (1,1%) wurde ein PAP IV-a dokumentiert. Um die Befunde besser vergleichen zu können, wurden diese in Kategorien gemäß Tabelle 17 zusammengefasst.

Tabelle 17: Zytologische Ausgangsbefunde in Kategorien

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Zytologische Ausgangsbefunde der NIPP- Gruppe (n= 63)	PAP I + II-a	15 (23,8)	7 (30,4)	8 (20,0)
	PAP II-p + IIID1	22 (34,9)	13 (56,5)	9 (22,5)
	PAP IIID2 + III-p	26 (41,3)	3 (13,0)	23 (57,5)
	PAP IV-a	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Zytologische Ausgangsbefunde der Kontrollgruppe (n= 285)	PAP I + II-a	46 (16,1)	36 (17,6)	10 (12,3)
	PAP II-p + IIID1	126 (44,2)	93 (45,6)	33 (40,7)
	PAP IIID2 + III-p	110 (38,6)	75 (36,8)	35 (43,2)
	PAP IV-a	3 (1,1)	0 (0,0)	3 (3,7)

Den Daten aus Tabelle 17 zufolge, wiesen 23,8 Prozent der Patientinnen in der NIPP-Gruppe zu Beginn einen PAP I oder PAP II-a auf. Etwa ein Drittel der Patientinnen (34,9%) wies entweder einen PAP II-p oder einen PAP IIID1 auf. Die verbleibenden Patientinnen der NIPP-Gruppe (41,3%) zeigten zum Ausgangszeitpunkt einen PAP IIID2 oder III-p.

Ähnliche Verteilungen wurden in der Kontrollgruppe festgestellt; allerdings wurde bei drei Patientinnen (1,1%) bereits bei Erstkontakt ein PAP IV-a festgestellt. Beide Gruppen zeigten in Bezug auf die Ausgangsverteilung der zytologischen Befunde vergleichbare Ergebnisse. Der Mann-Whitney-U-Test (n = 348) ergab zum Ausgangszeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Befunden der NIPP- und Kontrollgruppe (p = 0,593). Dies bestätigte sich sowohl für die Subgruppe CIN1 (n = 227, p = 0,051) als auch für die Subgruppe CIN2 (n = 121, p = 0,785).

4.4.2 Zytologische Befunde nach 2-3 Wochen

Im Rahmen der zweiten Studienvisite, die zwei bis drei Wochen nach der NIPP-Behandlung stattfand, erfolgte routinemäßig eine zweite zytologische Abstrichentnahme innerhalb der NIPP-Gruppe. Die Ergebnisse werden in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen (n= 56)	PAP II-a	26 (46,4)	10 (47,6)	16 (45,7)
	PAP II-p	11 (19,6)	4 (19,0)	7 (20,0)
	PAP IIID1	9 (16,1)	4 (19,0)	5 (14,3)
	PAP IIID2	9 (16,1)	2 (9,5)	7 (20,0)
	PAP III-p	1 (1,8)	1 (4,8)	0 (0,0)

Zwei bis drei Wochen nach der NIPP-Behandlung konnte bei fast der Hälfte der Patientinnen (46,4%) ein PAP II-a detektiert werden. Elf Patientinnen (19,6%) wiesen einen PAP II-p auf, während jeweils neun Patientinnen (16,1%) einen PAP IIID1 bzw. einen PAP IIID2 zeigten. Lediglich bei einer Patientin (1,8%) wurde ein PAP III-p festgestellt.

In Tabelle 19 werden die zytologischen Befunde der zweiten Studienvisite in Kategorien dargestellt.

Tabelle 19: Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen in Kategorien

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen (n= 56)	PAP I + II-a	26 (46,4)	10 (47,6)	16 (45,7)
	PAP II-p + IIID1	20 (35,7)	8 (38,1)	12 (34,3)
	PAP IIID2 + III-p	10 (17,9)	3 (14,3)	7 (20,0)
	PAP IV-a	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Bei der zweiten Studienvisite nach zwei bis drei Wochen wiesen 26 Patientinnen (46,4%) einen unauffälligen zytologischen Befund auf. Bei 20 Patientinnen (35,7%) wurde ein PAP II-p oder IIID1 festgestellt, während bei 17,9 Prozent der Patientinnen ein PAP IIID2 oder PAP III-p vorlag. Tabelle 20 zeigt die individuellen Befundveränderungen nach zwei bis drei Wochen im Vergleich zum Ausgangsbefund.

Tabelle 20: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach zwei bis drei Wochen im Vergleich zum Ausgangsbefund

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Befundveränderungen der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen (n= 56)	Verbesserung	26 (46,4)	10 (47,6)	16 (45,7)
	Verschlechterung	8 (14,3)	4 (19,0)	4 (11,4)
	Persistenz	22 (39,3)	7 (33,3)	15 (42,9)

Der Vergleich der Ausgangsbefunde mit den Befunden zur zweiten Studienvisite ergab bei 26 Patientinnen (46,4%) eine Verbesserung des zytologischen Ergebnisses. Bei 22 Patientinnen (39,3%) blieb der zytologische Befund unverändert, und bei acht Patientinnen (14,3%) kam es zu einer Befundverschlechterung. Mithilfe des asymptotischen Wilcoxon-Tests (n = 56) konnte für den beschriebenen Zeitraum innerhalb der NIPP-behandelten Gruppe eine signifikante Änderung der zytologischen Befunde nachgewiesen werden (p = 0,001). Eine signifikante Änderung wurde ebenfalls in den Subgruppen CIN1 (n = 21, p = 0,007) und CIN2 (n = 37, p = 0,001) festgestellt.

4.4.3 Zytologische Befunde nach 3 Monaten

Im Rahmen des zweiten Nachuntersuchungstermins (3. Studienvisite) nach drei Monaten erschienen 58 Patientinnen (98,3%) der NIPP-Gruppe. Im Zuge dieses Nachuntersuchungstermins wurden erneut zytologische Abstriche entnommen. Bei 282 Patientinnen (98,3%) der Kontrollgruppe konnten zytologische Befunde nach drei Monaten ermittelt werden. Tabelle 21 veranschaulicht die Daten aus NIPP- und Kontrollgruppe.

Tabelle 21: Zytologische Befunde nach 3 Monaten

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten (n= 58)	PAP II-a	31 (53,4)	14 (66,7)	17 (45,9)
	PAP II-p	12 (20,7)	3 (14,3)	9 (24,3)
	PAP IIID1	4 (6,9)	3 (14,3)	1 (2,7)
	PAP IIID2	9 (15,5)	1 (4,8)	8 (21,6)
	PAP III-p	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)
	PAP IV-a	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)
Zytologische Befunde der Kontrollgruppe nach 3 Monaten (n= 282)	PAP II-a	80 (28,4)	59 (29,4)	21 (25,9)
	PAP II-p	40 (14,2)	36 (17,9)	4 (4,9)
	PAP IIID1	73 (25,9)	58 (28,9)	15 (18,5)
	PAP IIID2	61 (21,6)	34 (16,9)	27 (33,3)
	PAP III-p	11 (3,9)	10 (5,0)	1 (1,2)
	PAP IV-a	17 (6,0)	4 (2,0)	13 (16,0)

Drei Monate nach der NIPP-Behandlung wurde bei mehr als der Hälfte der Patientinnen (53,4%) ein PAP II-a festgestellt. Etwa ein Fünftel der Patientinnen (20,4%) wies einen PAP II-p auf. Im Vergleich zum ersten Nachuntersuchungstermin sank der Anteil der PAP IIID1-Befunde von 16,1 Prozent auf 6,9 Prozent. Der Anteil der PAP IIID2-Befunde sank nur geringfügig von 16,1 Prozent auf 15,5 Prozent. Bei einer Patientin (1,7%) wurde der Befund eines PAP III-p festgestellt, und bei einer weiteren Patientin (1,7%) wurde nach drei Monaten ein PAP IV-a dokumentiert. Vor der NIPP-Behandlung wies diese Patientin eine CIN2-Läsion auf.

Nach drei Monaten lag der Anteil der Patientinnen mit PAP II-a in der Kontrollgruppe bei 28,4 Prozent. Die Anteile der Patientinnen mit PAP II-p (14,2%), PAP IIID1 (25,9%), PAP IIID2 (21,6%) und PAP III-p (3,9%) waren jeweils leicht gesunken. Zudem kam es zu einem Anstieg der Patientinnen mit PAP IV-a von 1,1 Prozent zum Ausgangszeitpunkt auf nun 6,0 Prozent.

Tabelle 22 fasst die zytologischen Ergebnisse der dritten Studienvsiste in Kategorien zusammen.

Tabelle 22: Zytologische Befunde nach 3 Monaten in Kategorien

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten in Kategorien (n= 58)	PAP I + II-a	30 (51,7)	14 (66,4)	16 (43,2)
	PAP II-p + IIID1	17 (29,3)	6 (28,6)	11 (29,7)
	PAP IIID2 + III-p	10 (17,2)	1 (4,8)	9 (24,3)
	PAP IV-a	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)
Zytologische Befunde der Kontrollgruppe nach 3 Monaten in Kategorien (n= 282)	PAP I + II-a	79 (28,0)	58 (28,9)	21 (25,9)
	PAP II-p + IIID1	114 (40,4)	95 (47,3)	19 (23,5)
	PAP IIID2 + III-p	72 (25,5)	44 (21,9)	28 (34,6)
	PAP IV-a	17 (6,0)	4 (2,0)	13 (16,0)

Bei der Nachuntersuchung nach drei Monaten verbesserten sich die durchschnittlichen Ergebnisse der PAP-Abstriche in beiden Kohorten signifikant. Insbesondere in der NIPP-behandelten Gruppe kam es zu einer deutlichen Zunahme des Anteils an Patientinnen mit unauffälligen zytologischen Befunden (PAP I oder PAP II-a), welcher nach drei Monaten 51,7 Prozent betrug und damit fast doppelt so hoch war wie zu Beginn. Im Vergleich dazu wiesen 28 Prozent der Kontrollgruppe nach drei Monaten unauffällige zytologische Befunde auf. Ferner zeigte sich innerhalb der NIPP-Gruppe eine Reduktion der Patientinnen mit PAP IIID2 oder PAP III-p von 41,4 Prozent auf 17,2 Prozent. Die Kontrollgruppe zeigte nach drei Monaten insgesamt ähnliche zytologische Befunde wie zu Studienbeginn.

Tabelle 23 veranschaulicht die individuellen Befundveränderungen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund.

Tabelle 23: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund

		Gesamt	CIN 1	CIN 2
		n (%)	n (%)	n (%)
Befundveränderungen der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten (n= 58)	Verbesserung	27 (46,6)	8 (38,1)	19 (51,4)
	Persistenz	22 (37,9)	13 (61,9)	9 (24,3)
	Verschlechterung	9 (15,5)	0 (0,0)	9 (24,3)
Befundveränderungen der Kontrollgruppe nach 3 Monaten (n= 282)	Verbesserung	87 (30,9)	67 (33,3)	20 (24,7)
	Persistenz	140 (49,6)	103 (51,2)	37 (45,7)
	Verschlechterung	55 (19,5)	31 (15,4)	24 (29,6)

Innerhalb der NIPP-behandelten Gruppe wurde bei 27 Patientinnen (46,6%) im Vergleich zum Ausgangsbefund eine Verbesserung des zytologischen Ergebnisses festgestellt. Bei 22 Patientinnen (15,5%) blieb der zytologische Befund unverändert, und bei neun Patientinnen (15,0%) kam es zu einer Verschlechterung des zytologischen Befundes.

In der Kontrollgruppe zeigten 87 Patientinnen (30,9%) nach drei Monaten eine Befundverbesserung im Vergleich zum Ausgangsbefund. 140 Patientinnen (49,6%) wiesen einen unveränderten zytologischen Befund auf, während 55 Patientinnen (19,5%) eine Befundverschlechterung zeigten.

Anhand des asymptotischen Wilcoxon-Tests ($n = 58$) konnte für den zuvor beschriebenen Zeitraum in der NIPP-behandelten Gruppe eine signifikante Veränderung der zytologischen Befunde nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Dieser statistisch signifikante Effekt zeigte sich ebenfalls innerhalb der Subgruppen CIN1 ($n = 21$, $p = 0,008$) und CIN2 ($n = 37$, $p = 0,004$). Auch innerhalb der Kontrollgruppe ($n = 282$) konnte mithilfe des asymptotischen Wilcoxon-Tests eine signifikante Veränderung der zytologischen Befunde beobachtet werden ($p = 0,003$). Für die Subgruppe CIN1 ($n = 201$, $p < 0,001$) wurde ebenfalls eine signifikante Veränderung festgestellt. Hingegen konnte in der Subgruppe CIN2 ($n = 81$) keine signifikante Veränderung der zytologischen Befunde beobachtet werden ($p = 0,890$).

4.4.4 Zytologische Befunde nach 6 Monaten

Die vierte Studienvisite erfolgte sechs Monate nach der NIPP-Behandlung. Auch für diesen Zeitraum wurden sowohl Daten der NIPP- als auch der Kontrollgruppe erhoben, welche in Tabelle 24 zusammengefasst sind.

Tabelle 24: Zytologische Befunde nach sechs Monaten unter Berücksichtigung der Interventionen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten sowie Interventionen (n=55)	PAP II-a	30 (54,5)	12 (57,1)	18 (52,9)
	PAP II-p	12 (21,8)	6 (28,6)	6 (17,6)
	PAP IIID1	3 (5,5)	0 (0,0)	3 (8,8)
	PAP IIID2	2 (3,6)	1 (4,8)	1 (2,9)
	PAP III-p	2 (3,6)	1 (4,8)	1 (2,9)
	PAP IV-a	2 (3,6)	0 (0,0)	2 (5,9)
	Intervention	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
Zytologische Befunde der Kontrollgruppe nach 6 Monaten sowie Interventionen (n=282)	PAP II-a	101 (35,8)	81 (39,9)	20 (25,3)
	PAP II-p	36 (12,8)	32 (15,8)	4 (5,1)
	PAP IIID1	40 (14,2)	31 (15,3)	9 (11,4)
	PAP IIID2	19 (6,7)	11 (5,4)	8 (10,1)
	PAP III-p	7 (2,5)	7 (3,4)	0 (0,0)
	PAP IV-a	8 (2,8)	3 (1,5)	5 (6,3)
	Intervention	71 (25,2)	38 (18,7)	33 (41,8)

Sechs Monate nach der NIPP-Behandlung stieg der Anteil der Patientinnen mit einem PAP II-a in der NIPP-Gruppe von 53,4 Prozent auf 54,5 Prozent. Etwa 21,8 Prozent der Patientinnen wiesen einen PAP II-p auf. Drei Patientinnen (5,5%) zeigten einen PAP IIID1, zwei Patientinnen (3,6%) einen PAP IIID2 und zwei weitere Patientinnen (3,6%) einen PAP III-p. Bei zwei Patientinnen (3,6%) wurde nach sechs Monaten der zytologische Befund eines PAP IV-a festgestellt, wobei beide Patientinnen vor der Behandlung eine CIN2 aufwiesen. Insgesamt wurde bei vier Patientinnen (7,3%) der NIPP-Gruppe eine Intervention durchgeführt. Auch in der Kontrollgruppe nahm der Anteil der Patientinnen mit unauffälligen zytologischen Befunden weiter zu. Nach drei Monaten hatten 28,3 Prozent der Patientinnen einen PAP II-a, dieser Anteil stieg nach sechs Monaten auf 35,8 Prozent. 36 Patientinnen (12,8%) wiesen einen PAP II-p, 40 Patientinnen (14,2%) einen PAP IIID1, 19 Patientinnen (6,7%) einen PAP IIID2 und 7 Patientinnen (2,5%) einen PAP III-p auf. Der Anteil der Patientinnen mit einem PAP IV-a sank im Vergleich zu den Ergebnissen nach drei Monaten auf 2,8 Prozent. Allerdings wurde bei etwa einem Viertel der Patientinnen der Kontrollgruppe nach drei Monaten eine Intervention durchgeführt.

In der nachfolgenden Tabelle 25 sind die zytologischen Befunde nach sechs Monaten in Kategorien zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 25: Zytologische Befunde in Kategorien nach sechs Monaten unter Berücksichtigung der Interventionen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Zytologische Befunde der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten in Kategorien sowie Interventionen (n= 55)	PAP I + II-a	30 (54,5)	12 (57,1)	18 (52,9)
	PAP II-p + IIID1	14 (25,5)	6 (28,6)	8 (23,5)
	PAP IIID2 + III-p	5 (9,1)	2 (9,5)	3 (8,8)
	PAP IV-a	2 (3,6)	0 (0,0)	2 (5,9)
	Intervention	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
Zytologische Befunde der Kontrollgruppe nach 6 Monaten in Kategorien sowie Interventionen (n= 282)	PAP I + II-a	101 (35,8)	81 (39,9)	20 (25,3)
	PAP II-p + IIID1	76 (27,0)	63 (31,0)	13 (16,5)
	PAP IIID2 + III-p	26 (9,2)	18 (8,9)	8 (10,1)
	PAP IV-a	8 (2,8)	3 (1,5)	5 (6,3)
	Intervention	71 (25,2)	38 (18,7)	33 (41,8)

Die in Tabelle 25 dargestellten zytologischen Befunde nach sechs Monaten zeigen, dass der Anteil der Patientinnen mit unauffälligen zytologischen Befunden in Form eines PAP I oder PAP II-a innerhalb der NIPP-Gruppe signifikant anstieg und nach sechs Monaten 54,5 Prozent erreichte. In der Kontrollgruppe hatten 101 Patientinnen (35,8%) nach sechs Monaten einen unauffälligen zytologischen Befund, während bei 71 Patientinnen (25,2%) eine Intervention erforderlich war.

Tabelle 26 vergleicht die individuellen Befundveränderungen nach sechs Monaten mit dem Ausgangszeitpunkt.

Tabelle 26: Individuelle zytologische Befundveränderungen nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Befundveränderungen der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten (n= 55)	Verbesserung	29 (52,7)	11 (52,4)	18 (52,9)
	Persistenz	12 (21,8)	6 (28,6)	6 (17,6)
	Verschlechterung	14 (25,5)	4 (19,0)	10 (29,4)
Befundveränderungen der Kontrollgruppe nach 6 Monaten (n= 282)	Verbesserung	107 (37,9)	87 (42,9)	20 (25,3)
	Persistenz	73 (25,9)	54 (26,6)	19 (24,1)
	Verschlechterung	102 (36,2)	62 (30,5)	40 (50,6)

In der NIPP-Gruppe zeigten 29 Patientinnen (52,7%) eine Verbesserung des zytologischen Befundes im Vergleich zum Ausgangsbefund, während bei 12 Patientinnen (21,8%) eine Befundpersistenz und bei 14 Patientinnen (25,5%) eine Verschlechterung festgestellt wurde. In der Kontrollgruppe verbesserten sich die zytologischen Befunde bei 107 Patientinnen (37,9%), während bei 73 Patientinnen (25,9%) der Befund unverändert blieb und bei 102 Patientinnen (36,2%) eine Progression des Befundes festgestellt wurde.

Mithilfe des asymptotischen Wilcoxon-Tests ($n = 55$) konnte innerhalb der NIPP-Gruppe eine deutliche, jedoch nicht signifikante Veränderung der zytologischen Befunde über den beschriebenen Zeitraum nachgewiesen werden ($p = 0,051$). Innerhalb der Untergruppen CIN1 ($n = 21$, $p = 0,193$) und CIN2 ($n = 34$, $p = 0,121$) konnte ebenfalls keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden.

In der Kontrollgruppe ($n = 282$) zeigte der asymptotische Wilcoxon-Test eine signifikante Änderung der zytologischen Befunde ($p < 0,001$). Für die Untergruppe CIN1 ($n = 203$) konnte jedoch keine signifikante Veränderung der zytologischen Befunde festgestellt werden ($p = 0,400$). In der Untergruppe CIN2 ($n = 79$) wurde hingegen eine signifikante Veränderung nachgewiesen ($p < 0,001$).

4.5 Kolposkopische Beurteilung der NIPP-Wirksamkeit

Im Rahmen der Studie wurde die kolposkopische Untersuchung innerhalb der NIPP-Gruppe zu vier verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt. Nach Färbung der Portio uteri erfolgte bei jeder Visite eine Beurteilung der T-Zone, gefolgt von einer gezielten Biopsie zur histologischen Analyse.

4.5.1 Ausgangsbefunde der Transformationszone

Zu Beginn der Studie, im Rahmen des Erstkontakts während der Dysplasiesprechstunde, wurde die T-Zone der Patientinnen beurteilt. Zu den Einschlusskriterien der Studie gehörte, dass die T-Zone sicher beurteilbar sein musste, weshalb ausschließlich Patientinnen mit T1 und T2 in die Studie eingeschlossen wurden. Tabelle 27 fasst die Ausgangsbefunde der T-Zone zusammen.

Tabelle 27: Ausgangslokalisierung der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe

		Gesamt (n=63)	CIN1 (n=23)	CIN2 (n=40)
		n (%)	n (%)	n (%)
T-Zone der NIPP-Gruppe zum Ausgangszeitpunkt (n=63)	T1	50 (79,4)	18 (78,3)	32 (80,0)
	T2	13 (20,6)	5 (21,7)	8 (20,0)
	T3	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Zu Beginn der Studie wurde bei 50 Patientinnen (79,4%) eine T1 und bei 13 Patientinnen (20,6%) eine T2 diagnostiziert. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Subgruppen CIN1 und CIN2 hinsichtlich der Lokalisation der T-Zone konnte durch den Mann-Whitney-U-Test (n = 63) nicht festgestellt werden (p = 0,871).

4.5.2 Veränderungen der Transformationszone nach 2-3 Wochen

Während der zweiten Studienvsiste, die zwei bis drei Wochen nach der NIPP-Behandlung stattfand, wurde erneut die Lokalisation der T-Zone bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 28 zusammengefasst.

Tabelle 28: Lokalisation der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
T-Zone der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen (n=12)	T1	10 (83,3)	5 (83,3)	5 (83,3)
	T2	2 (16,7)	1 (16,7)	1 (16,7)
	T3	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Von den zwölf Patientinnen, bei denen während der zweiten Visite eine T-Zone bestimmt wurde, wiesen zehn Patientinnen (83,3%) eine T1 und zwei Patientinnen (16,7%) eine T2 auf. Die individuellen Veränderungen der T-Zone sind in Tabelle 29 dargestellt.

Tabelle 29: Veränderungen der Lokalisation der Transformationszone innerhalb der NIPP-Gruppe nach 2-3 Wochen

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Veränderungen der T-Zone nach 2-3 Wochen (n=12)	Extrazervikal	1 (8,3)	1 (16,7)	0 (0,0)
	Unverändert	11 (91,7)	5 (83,3)	6 (100,0)
	Intrazervikal	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Im Vergleich zur prätherapeutischen Lokalisation zeigte sich bei einer Patientin (8,3%) eine Verlagerung der T-Zone nach extrazervikal. Bei den restlichen elf Patientinnen (91,7%) blieb die T-Zone unverändert. Der asymptotische Wilcoxon-Test (n = 12) ergab für diesen Zeitraum keine signifikante Verlagerung der T-Zone (p = 0,317), ebenfalls nicht innerhalb der Subgruppen CIN1 (n = 6, p = 0,317) und CIN2 (n = 6, p = 1,000).

4.5.3 Veränderungen der Transformationszone nach 3 Monaten

Drei Monate nach der NIPP-Behandlung, im Rahmen der dritten Studienvisite, wurde bei 58 Patientinnen (98,3%) die Lokalisation der T-Zone erneut unter kolposkopischer Sicht bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 30 aufgeführt.

Tabelle 30: Lokalisation der Transformationszone der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
T-Zone der NIPP-Gruppe nach 3 Monaten (n=58)	T1	19 (32,8)	8 (38,1)	11 (29,7)
	T2	19 (32,8)	6 (28,6)	13 (35,1)
	T3	20 (34,5)	7 (33,3)	13 (35,1)

Verglichen mit den prätherapeutischen Befunden sank der Anteil der Patientinnen mit einer T1 von 79,4 Prozent auf 32,8 Prozent. Der Anteil an Patientinnen mit einer T2 stieg leicht von 20,6 Prozent auf 32,8 Prozent. Bei 20 Patientinnen (34,5%) wurde nach drei Monaten eine T3 beobachtet. Tabelle 31 beschreibt die individuellen Veränderungen der Patientinnen im Detail, wobei die Lokalisation der T-Zone vor der NIPP-Behandlung mit der nach drei Monaten verglichen wurde.

Tabelle 31: Verlagerungen der Transformationszone nach 3 Monaten im Vergleich zum Ausgangszeitpunkt

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Veränderungen der T-Zone nach 3 Monaten (n=58)	extrazervikal	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)
	unverändert	23 (39,7)	11 (52,4)	12 (32,4)
	intrazervikal	34 (58,6)	10 (47,6)	24 (64,9)

Dabei zeigte sich, dass bei einer Patientin (1,7%) eine Verlagerung der T-Zone nach extrazervikal aufgetreten war. Bei 23 Patientinnen (39,7%) blieb die T-Zone unverändert, während bei 34 Patientinnen (58,6%) eine Verlagerung der T-Zone nach intrazervikal beobachtet wurde. Der asymptotische Wilcoxon-Test (n = 58) wies für diesen Zeitraum eine signifikante Verlagerung der T-Zone nach ($p < 0,001$). Diese signifikante Verlagerung konnte sowohl in der CIN1-Gruppe (n = 21, $p = 0,004$) als auch in der CIN2-Gruppe (n = 37, $p < 0,001$) nachgewiesen werden.

4.5.4 Veränderungen der Transformationszone nach 6 Monaten

Die vierte Studienvisite fand sechs Monate nach der NIPP-Behandlung statt, wobei erneut die Lokalisation der T-Zone beurteilt wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 32 zusammengefasst.

Tabelle 32: Lokalisation der Transformationszone der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
T-Zone der NIPP-Gruppe nach 6 Monaten (n=51)	T1	13 (25,5)	5 (25,0)	8 (25,8)
	T2	15 (29,4)	8 (40,0)	7 (22,6)
	T3	23 (45,1)	7 (35,0)	16 (51,6)

Die T-Zone zeigte nach sechs Monaten im Vergleich zur Lokalisation nach drei Monaten eine weiter fortschreitende Verlagerung nach intrazervikal. Bei 13 Patientinnen (25,5%) wurde nach sechs Monaten eine T1 beobachtet, während 15 Patientinnen (29,4%) eine T2 aufwiesen. Der Anteil der Patientinnen mit einer T3 stieg von 34,5 Prozent nach drei Monaten auf 45,1 Prozent nach sechs Monaten. Tabelle 33 illustriert die Veränderungen der T-Zone im Vergleich zur Ausgangslokalisierung.

Tabelle 33: Verlagerung der Transformationszone nach 6 Monaten im Vergleich zur Ausgangslokalisierung

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Veränderungen der T-Zone nach 6 Monaten (n=51)	extrazervikal	1 (2,0)	0 (0,0)	1 (3,2)
	unverändert	14 (27,5)	7 (30,0)	8 (25,8)
	intrazervikal	36 (70,6)	13 (70,0)	13 (71,0)

Beim Vergleich der Lokalisation der T-Zone zum Ausgangszeitpunkt mit der nach sechs Monaten zeigte sich, dass bei 70,6 Prozent der Patientinnen eine Verlagerung der T-Zone nach intrazervikal auftrat, während 14 Patientinnen (27,5%) eine unveränderte Lage der T-Zone aufwiesen. Bei einer Patientin (2,0%) wurde eine Verlagerung nach extrazervikal beobachtet. Der asymptotische Wilcoxon-Test ($n = 51$) bestätigte eine signifikante Verlagerung der T-Zone im Zeitraum von sechs Monaten ($p < 0,001$). Dieser signifikante Effekt konnte ebenfalls für die Untergruppe CIN1 ($n = 20$, $p = 0,001$) und CIN2 ($n = 31$, $p < 0,001$) nachgewiesen werden.

4.5.5 Gesamtbeurteilung des Verlaufs der Transformationszone

Abschließend wurde untersucht, zwischen welchen Studienvisiten die signifikantesten Veränderungen der T-Zone auftraten. Der Friedman-Test ($n = 51$) zeigte signifikante

Unterschiede in der Lokalisation der T-Zone zwischen den drei Zeitpunkten (Behandlungszeitpunkt, drei Monate nach der Behandlung und sechs Monate nach der Behandlung) ($p < 0,001$). Post-hoc-Analysen mittels Dunn-Bonferroni-Tests zeigten, dass sich die T-Zone vor der NIPP-Behandlung signifikant von der nach drei Monaten unterschied ($p < 0,001$, Effektstärke nach Cohen (1992): $r = 0,11$, geringe Effektstärke). Ein etwas stärkerer Effekt zeigte sich beim Vergleich der T-Zone vor der Behandlung mit der nach sechs Monaten ($p < 0,001$, $r = 0,15$, geringe Effektstärke). Es wurde jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Befunden nach drei und sechs Monaten festgestellt ($p = 0,647$).

4.6 Virologische Ergebnisse nach NIPP-Behandlung

Im Rahmen der Untersuchung zur virologischen Wirksamkeit der NIPP-Behandlung wurde überprüft, ob eine einmalige NIPP-Therapie einen positiven Einfluss auf die Persistenz von hrHPV-Infektionen ausüben kann. Zu diesem Zweck wurden von den Patientinnen sowohl vor der Behandlung als auch bei der vierten Studienvisite, sechs Monate nach der NIPP-Behandlung, virologische Abstriche entnommen. Zusätzlich erfolgte eine immunhistochemische Untersuchung mittels p16^{INK4a}-Färbung, wobei eine p16^{INK4a}-Positivität in Abwesenheit eines HPV-Tests als „hrHPV-positiv“ gewertet wurde.

4.6.1 Virologische Ausgangsbefunde

Zu Beginn der Studie wurde bei den Patientinnen während des Erstkontakts in der Dysplasiesprechstunde ein virologischer Abstrich durchgeführt, um das Vorliegen von Infektionen mit lrHPV oder hrHPV zu bestimmen. Die Ausgangsergebnisse sind in Tabelle 34 zusammengefasst.

Tabelle 34: Virologische Befunde vor NIPP-Behandlung

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
hrHPV vor NIPP-Behandlung (n= 63)	Negativ	16 (25,4)	9 (39,1)	7 (17,5)
	Positiv	47 (74,6)	14 (60,9)	33 (82,5)
lrHPV vor NIPP-Behandlung (n= 53)	Negativ	46 (86,8)	17 (85,0)	29 (87,9)
	Positiv	7 (13,2)	3 (15,0)	4 (12,1)

Vor der NIPP-Behandlung waren 74,6 Prozent der Patientinnen mit hrHPV infiziert. In der CIN1-Gruppe lag der Anteil bei 60,9 Prozent, während in der CIN2-Gruppe 82,5 Prozent der Patientinnen hrHPV-positiv waren. Informationen zu lrHPV-Infektionen lagen für 53 Patientinnen vor. Eine lrHPV-Infektion wurde bei 13,2 Prozent der Patientinnen festgestellt, darunter 15,0 Prozent der Patientinnen mit CIN1 und 12,1 Prozent der Patientinnen mit CIN2.

4.6.2 Veränderungen der virologischen Ergebnisse nach 6 Monaten

Sechs Monate nach der NIPP-Behandlung erfolgte eine erneute virologische Abstrichuntersuchung. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 35 dargestellt.

Tabelle 35: Virologische Befunde sechs Monate nach NIPP-Behandlung

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
hrHPV nach NIPP-Behandlung (n= 48)	Negativ	30 (62,5)	14 (70,0)	16 (57,1)
	Positiv	18 (37,5)	6 (30,0)	12 (42,9)
lrHPV nach NIPP-Behandlung (n= 36)	Negativ	31 (86,1)	15 (88,2)	16 (84,2)
	Positiv	5 (13,9)	2 (11,8)	3 (15,8)

Im Vergleich zu den Ausgangswerten zeigte sich nach der NIPP-Behandlung eine Reduktion der hrHPV-Infektionen. Der Anteil hrHPV-positiver Patientinnen sank von 74,6 Prozent auf 37,5 Prozent. In der CIN1-Gruppe reduzierte sich der Anteil hrHPV-positiver Patientinnen von 60,9 Prozent auf 30,0 Prozent, und in der CIN2-Gruppe verringerte sich der Anteil von 82,5 Prozent auf 42,9 Prozent.

Tabelle 36 zeigt die Veränderungen der hrHPV-Befunde über den Zeitraum von sechs Monaten.

Tabelle 36: Virologische hrHPV-Befundveränderungen nach sechs Monaten

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Virologische hrHPV- Befund-veränderungen nach 6 Monaten (n = 48)	Eradikation	18 (37,5)	6 (30,0)	12 (42,9)
	Persistenz	29 (60,4)	14 (70,0)	15 (53,6)
	Neuinfektion	1 (2,1)	0 (0,0)	1 (3,6)

Es wurde festgestellt, dass eine Patientin (2,1%) eine Neuinfektion mit hrHPV entwickelte. Bei 18 Patientinnen (37,5%) konnte eine Eradikation der hrHPV-Infektion nach sechs Monaten dokumentiert werden, während 13 Patientinnen (27,1%) über den gesamten Beobachtungszeitraum hrHPV-negativ blieben. Weitere 17 Patientinnen (35,4%) blieben hrHPV-positiv. Der McNemar-Test (n = 48) zeigte eine signifikante Reduktion der hrHPV-Infektionen über den Beobachtungszeitraum ($p < 0,001$). Innerhalb

der Untergruppen zeigte sich in der CIN1-Gruppe (n = 20) keine signifikante Reduktion (p = 0,063), während in der CIN2-Gruppe (n = 28) ein signifikantes Ergebnis erzielt wurde (p = 0,003).

Tabelle 37 veranschaulicht die Veränderungen der lrHPV-Befunde nach sechs Monaten.

Tabelle 37: Virologische lrHPV-Befundveränderungen nach sechs Monaten

		Gesamt	CIN1	CIN2
		n (%)	n (%)	n (%)
Virologische lrHPV- Befund-veränderungen nach 6 Monaten (n= 28)	Eradikation	5 (17,9)	1 (7,7)	4 (26,4)
	Persistenz	20 (71,4)	9 (69,2)	11 (73,3)
	Neuinfektion	3 (10,7)	3 (23,1)	0 (0,0)

Für 28 Patientinnen lagen entsprechende Daten vor. Nach der NIPP-Behandlung wiesen fünf Patientinnen (17,9%) eine lrHPV-Infektion auf, darunter eine Patientin (7,7%) aus der CIN1-Gruppe und vier Patientinnen (26,4%) aus der CIN2-Gruppe. Bei vier Patientinnen (14,3%) wurde eine Neuinfektion mit lrHPV diagnostiziert, während weitere vier Patientinnen (14,3%) nach der Behandlung negativ auf lrHPV getestet wurden, obwohl sie vor der NIPP-Behandlung lrHPV-positiv waren. Der McNemar-Test (n = 28) zeigte für den Verlauf der lrHPV-Infektionen keine signifikante Veränderung (p = 1,000). Dies galt sowohl für die CIN1-Gruppe (n = 14, p = 1,000) als auch für die CIN2-Gruppe (n = 14, p = 1,000).

4.7 Erforderliche Interventionen während des Studienverlaufs

Im Verlauf des sechsmonatigen Beobachtungszeitraums wurden sowohl in der NIPP-Gruppe als auch in der Kontrollgruppe Interventionen vorgenommen, die auf auffällige zytologische oder histologische Befunde zurückzuführen waren. Diese Interventionen erfolgten unter Berücksichtigung der individuellen Risikofaktoren. Die nachfolgende Tabelle 38 illustriert die während des Beobachtungszeitraums durchgeführten Interventionen.

Tabelle 38: Erfolgte Interventionen innerhalb des sechsmonatigen Beobachtungszeitraums

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Erfolgte Interventionen in der NIPP-Gruppe (n= 55)	Nein	51 (92,7)	20 (95,2)	31 (91,2)
	Ja	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
Erfolgte Interventionen in der Kontrollgruppe (n= 287)	Nein	215 (74,9)	167 (81,1)	48 (59,3)
	Ja	72 (25,1)	39 (18,9)	33 (40,7)

Aus Tabelle 38 geht hervor, dass in der NIPP-Gruppe während des Studienzeitraums Interventionen bei vier Patientinnen (7,3%) erforderlich waren. Im Vergleich dazu lag der Anteil in der Kontrollgruppe mit 25,1 Prozent signifikant höher. Die durchgeführten Interventionen sind in Tabelle 39 zusammengefasst.

Tabelle 39: Art der gewählten Intervention

		Gesamt n (%)	CIN1 n (%)	CIN2 n (%)
Erfolgte Interventionen in der NIPP- Gruppe (n= 55)	Keine Intervention	51 (92,7)	20 (95,2)	31 (91,2)
	LLETZ	4 (7,3)	1 (4,8)	3 (8,8)
	Laservaporisation	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	Hysterektomie	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Erfolgte Interventionen in der Kontrollgruppe (n= 287)	Keine Intervention	215 (74,9)	167 (81,1)	48 (59,3)
	LLETZ	56 (19,5)	27 (13,1)	29 (35,8)
	Laservaporisation	13 (4,5)	9 (4,4)	4 (4,9)
	Hysterektomie	3 (1,0)	3 (1,5)	0 (0,0)

In der NIPP-Gruppe erhielten alle vier Patientinnen (7,3%) eine Intervention in Form einer LLETZ mit anschließender CK-Abrasio. In der Kontrollgruppe wurde bei 56

Patientinnen (19,5%) ebenfalls eine LLETZ mit CK-Abrasio durchgeführt. Zusätzlich erhielten 13 Patientinnen (4,5%) eine Laservaporisation und drei Patientinnen (1,0%) eine Hysterektomie.

Die histologische Untersuchung der Konisationspräparate in der Kontrollgruppe ergab, dass in 99,3 Prozent der Fälle keine Invasion festgestellt wurde. Bei zwei Patientinnen wurde jedoch eine Invasion in Form eines Adenokarzinoms diagnostiziert. Eine dieser Patientinnen (0,5%) wies zu Beginn eine CIN1, die andere Patientin (1,2%) eine CIN2 auf.

4.8 Nachuntersuchungen der LLETZ-Exzisionspräparate

Innerhalb der NIPP-Gruppe wurden die entnommenen LLETZ-Exzisionspräparate einer gezielten histopathologischen Analyse unterzogen, um die Wirkung der NIPP-Therapie umfassender zu evaluieren.

4.8.1 Vergleich der Befunde aus Probenentnahmen und LLETZ-Exzisionspräparat

Während des Beobachtungszeitraums wurde bei vier Patientinnen die Indikation zur Durchführung einer LLETZ nach der NIPP-Behandlung gestellt. In der nachfolgenden Tabelle 40 werden die histologischen Befunde der vor der LLETZ entnommenen Proben mit den Befunden der LLETZ-Exzisionspräparate verglichen.

Tabelle 40: Vergleich der histologischen Ergebnisse aus Probenentnahme und LLETZ-Exzisionspräparat

		Histologischer Befund der letzten Probenentnahme	Histologischer Befund des LLETZ-Exzisionspräparats
Fälle bei denen innerhalb des Beobachtungszeitraums eine LLETZ durchgeführt wurde	Fall 1	CIN3	CIN1
	Fall 2	CIN2	CIN1
	Fall 3	CIN2	CIN3
	Fall 4	CIN3	CIN2

Tabelle 40 zeigt, dass es keine Übereinstimmungen zwischen den histologischen Befunden der Probenentnahmen und den histologischen Befunden der LLETZ-Exzisionspräparate gab. In drei Fällen (75%) ergab die histopathologische Untersuchung der LLETZ-Exzisionspräparate einen milderen Dysplasiegrad im Vergleich zu den vorherigen Probenentnahmen. In einem Fall (25%) wurde hingegen eine höhergradige Dysplasie festgestellt als in der ursprünglich entnommenen Probe.

4.8.2 Histologische und immunhistochemische Befunde der LLETZ-Präparate

Im Rahmen der histopathologischen Nachuntersuchung der LLETZ-Exzisionspräparate wurde zusätzlich zur HE-Färbung eine immunhistochemische Färbung mit dem Marker p16^{INK4a} durchgeführt.

Die nachfolgende Abbildung 8 zeigt ein histologisches Präparat in 200-facher Vergrößerung, das mit einer HE-Färbung versehen wurde und eine CIN1 darstellt.

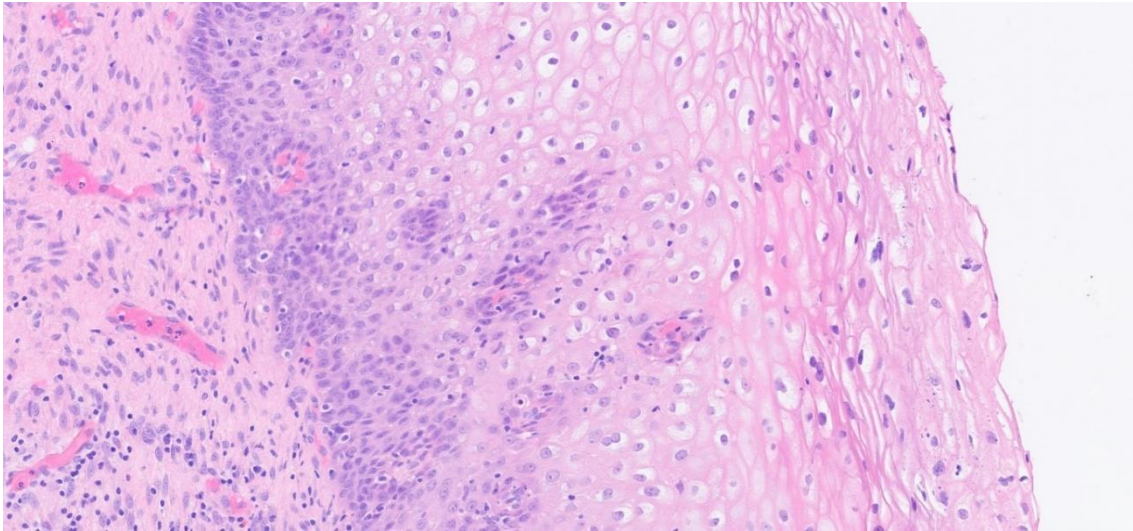


Abbildung 8: HE-Färbung einer CIN1 in 200-facher Vergrößerung

Die Abbildung illustriert mehrere charakteristische Merkmale, die für eine CIN1 typisch sind. Es ist eine Verdickung der Epithelzellschicht zu erkennen, wobei die Zellkerne in den basalen Schichten des Epithels vergrößert und hyperchromatisch erscheinen, was auf eine dysplastische Veränderung hinweist. In den Zellen des Stratum basale und Stratum parabasale lassen sich Anzeichen von Mitosen und Hyperchromasie beobachten, die auf eine abnormale Zellproliferation hindeuten. Diese Veränderungen sind jedoch auf das untere Drittel des Epithels beschränkt. In den oberflächlichen Schichten des Epithels treten Zellen mit helleren, perinukleären Höfen auf, die charakteristisch für eine HPV-Infektion sind. Diese Zellen, bekannt als Koilozyten, sind ein weiteres Indiz für eine CIN1. Es sind keine Anzeichen einer Invasion in das darunterliegende Stroma erkennbar, was die Diagnose einer CIN 1 unterstützt, da diese Veränderungen auf das Epithel beschränkt bleiben.

Zusammenfassend zeigt die Abbildung typische Merkmale einer CIN1, die durch milde dysplastische Veränderungen und das Vorhandensein von Koilozyten gekennzeichnet sind, ohne dass eine Invasion in das darunterliegende Gewebe vorliegt.

Die nachfolgende Abbildung 9 zeigt ein histologisches Präparat einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung, das mit einer HE-Färbung versehen wurde.

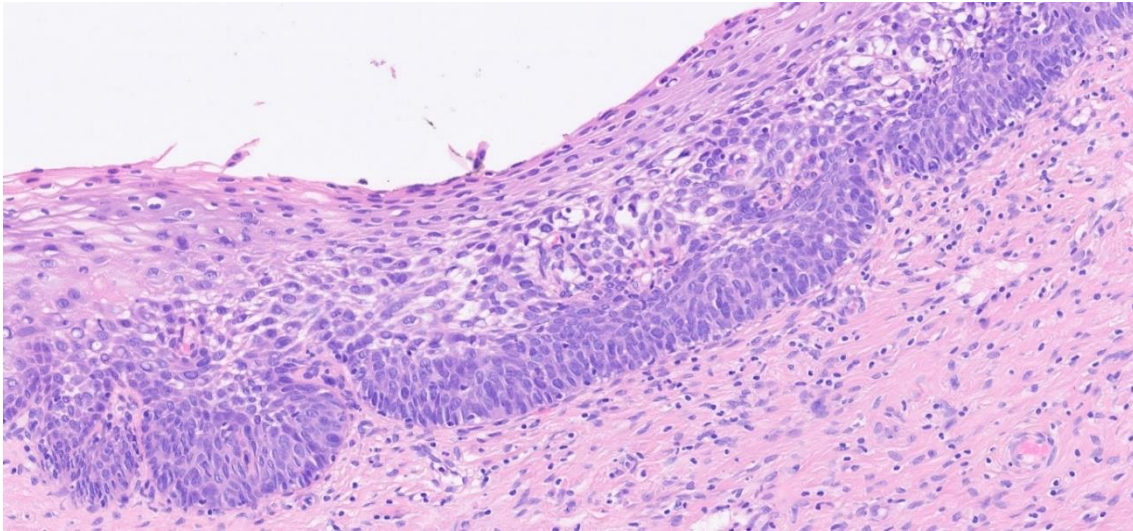


Abbildung 9: HE-Färbung einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung

Die vorliegende Abbildung zeigt eine CIN2. Das Epithel ist deutlich verdickt, gekennzeichnet durch eine vermehrte Zellschichtung und eine Vergrößerung des Zellkerndurchmessers. Die normale Zellarchitektur ist deutlich gestört, wobei diese Veränderungen bis in die mittleren zwei Drittel des Epithels reichen. Darüber hinaus sind in den mittleren Schichten des Epithels vermehrt Mitosen sichtbar, was auf eine gesteigerte Zellteilungsaktivität hindeutet, wie sie typischerweise bei Dysplasien vorkommt. Die betroffenen Zellen weisen eine erhöhte Kern-Plasma-Relation, Hyperchromasie und Anisonukleose auf. Im darunterliegenden Stroma sind keine invasiven Veränderungen erkennbar.

Insgesamt zeigt das Bild die klassischen Merkmale einer CIN2, charakterisiert durch eine Dysplasie, die etwa zwei Drittel der Epithelhöhe einnimmt.

Die nachfolgende Abbildung 10 zeigt ein histologisches Präparat einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung und nach Anwendung der immunhistochemischen Färbung gegen p16^{INK4a}.

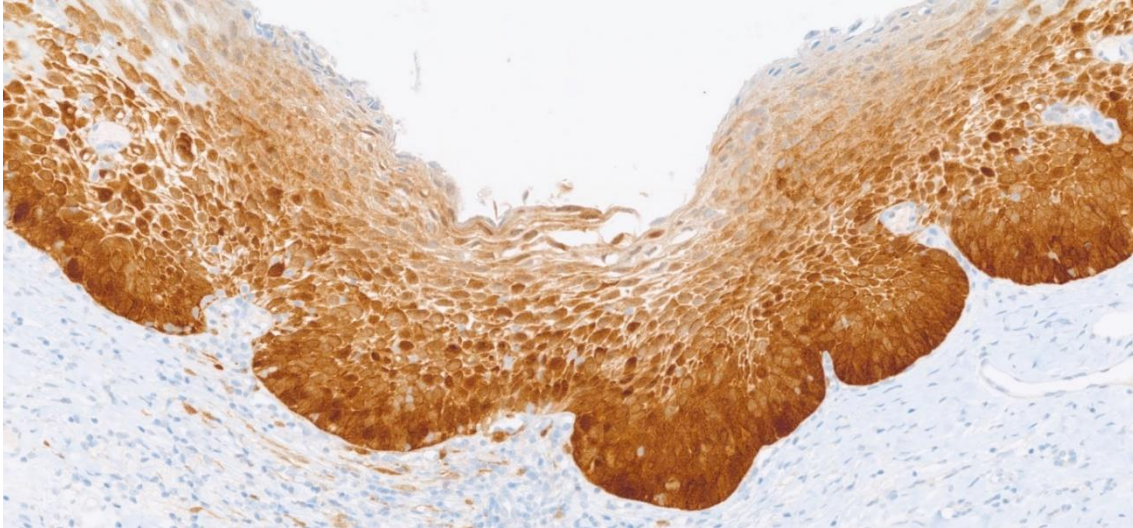


Abbildung 10: Immunhistochemische p16^{INK4a}-Färbung einer CIN2 in 200-facher Vergrößerung

Die vorliegende Abbildung 10 zeigt eine immunhistochemische Färbung von p16^{INK4a} in einer CIN2. Charakteristisch ist eine starke und diffuse braune Färbung, die sich überwiegend in den basalen und mittleren Schichten des Epithels findet. Diese p16^{INK4a}-Überexpression deutet auf eine HPV-induzierte Dysplasie hin, wie sie typisch für CIN2-Läsionen ist. Die obere Epithelschicht zeigt weniger oder keine Färbung, ebenso wie das darunterliegende Stroma, das weitgehend unbeeinflusst bleibt. Die klare Abgrenzung der positiven Färbung innerhalb der epithelialen Schichten unterstreicht die pathologische Veränderung in diesem Bereich und bestätigt die Diagnose einer CIN2.

In Abbildung 11 ist ein histologisches Präparat einer CIN3 in 100-facher Vergrößerung zu sehen, das mit einer HE-Färbung versehen wurde.

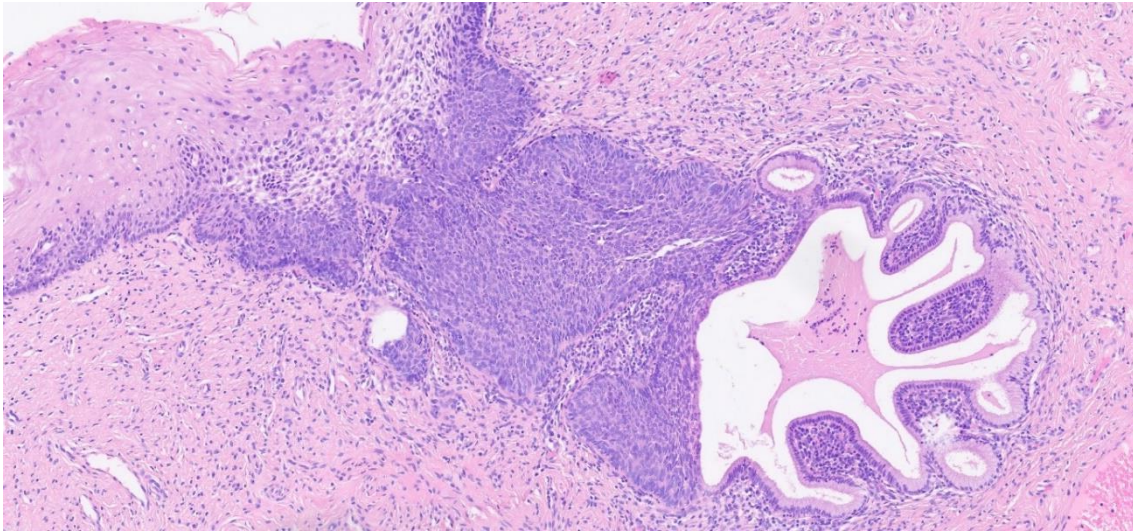


Abbildung 11: HE-Färbung einer CIN3 in 100-facher Vergrößerung

Abbildung 11 zeigt eine HE-Färbung einer CIN3. Auffällig ist die starke Dysplasie der epithelialen Zellen, die sich vor allem in einer Drüse manifestiert. Die Zellen innerhalb dieser Drüse zeigen deutliche Merkmale einer schweren Dysplasie, wie eine erhöhte Kern-Plasma-Relation, Hyperchromasie der Zellkerne und eine gesteigerte Mitoseaktivität.

Die Architektur der Drüse ist weitgehend erhalten, jedoch weisen die Zellen eine abnormale Schichtung auf, was auf die tiefgreifende zelluläre Transformation hinweist. Im umliegenden Stroma sind die Zellen weniger dysplastisch, wobei hier vorwiegend eine reaktive Veränderung erkennbar ist. Die invasive Grenze ist klar erkennbar, und die Dysplasie erstreckt sich bis an die Oberflächenepithelien heran, was für CIN3 typisch ist.

Abbildung 12 zeigt ein histologisches Präparat einer CIN3 mit einer immunhistochemischen Färbung für p16^{INK4a}, wobei die Neoplasie sich hauptsächlich in einer Drüse manifestiert.

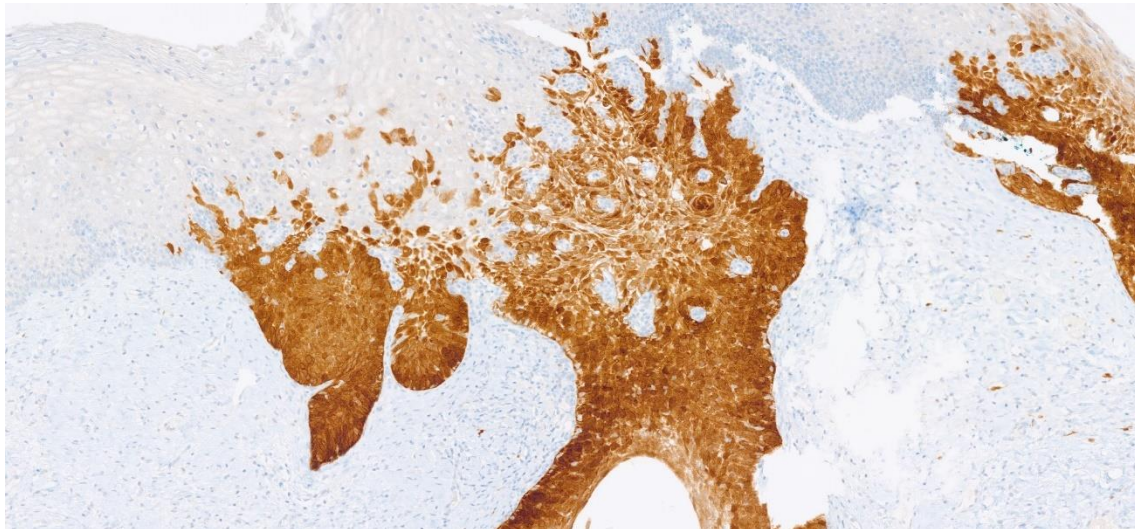


Abbildung 12: Immunhistochemische p16^{INK4a}-Färbung einer CIN3 in 200-facher Vergrößerung

Abbildung 12 zeigt eine immunhistochemische Färbung von p16^{INK4a} in einem histologischen Präparat einer CIN3. Auffällig ist die starke und diffuse braune Färbung, die eine Überexpression von p16^{INK4a} in den dysplastischen Zellen anzeigt. Besonders bemerkenswert ist, dass sich die CIN3-Läsion hauptsächlich in einer Drüse manifestiert, was durch die intensive Färbung innerhalb der drüsigen Struktur verdeutlicht wird.

Die p16^{INK4a}-Färbung ist typisch für hochgradige Dysplasien, wie sie bei CIN3 vorkommen, und dient als Marker für eine HPV-induzierte Zelltransformation. Die Drüsenstrukturen zeigen eine starke Proliferation dysplastischer Zellen, die sich durch eine intensive Färbung und eine deutliche Veränderung der Zellarchitektur auszeichnen. Die umgebenden nicht-dysplastischen Zellen sind kaum oder gar nicht gefärbt, was die spezifische Ausbreitung der Neoplasie innerhalb der Drüse unterstreicht.

Insgesamt bestätigt das Bild die Diagnose einer CIN3, bei der die p16^{INK4a}-Überexpression in den drüsigen Strukturen besonders ausgeprägt ist, was auf eine fortgeschrittene dysplastische Veränderung hinweist.

4.9 Bewertung des Patientenkomforts

Im Rahmen der durchgeführten Studie wurden die Teilnehmerinnen hinsichtlich ihres Schmerzempfindens sowie ihrer Zufriedenheit mit der NIPP-Behandlung befragt. Zu Beginn der Untersuchung erhielten alle 63 Teilnehmerinnen der NIPP-Gruppe einen Fragebogen, von denen 60 (95,2%) innerhalb des Beobachtungszeitraums zurückgegeben wurden. Die ersten fünf Fragen des Fragebogens fokussierten sich primär auf das Schmerzempfinden, während die sechste Frage mögliche Nebenwirkungen erfasste. Fragen sieben bis elf orientierten sich an den fünf Elementen des FIBS.

Die Teilnehmerinnen sollten ihre Schmerzen auf einer numerischen Ratingskala angeben, die von null (keine Schmerzen) bis zehn (stärkste vorstellbare Schmerzen) reichte. Für die Erfassung von Nebenwirkungen wurden die Patientinnen zunächst aufgefordert, anzugeben, ob Nebenwirkungen beobachtet wurden, und diese gegebenenfalls im Anschluss detailliert zu benennen. Um Unterschiede zwischen den beiden behandelten Patientengruppen zu identifizieren, wurden die Ergebnisse sowohl für die gesamte Behandlungsgruppe als auch für die verschiedenen Dysplasiegrade analysiert. Die 60 ausgewerteten Fragebögen setzten sich aus 22 Bewertungen von Patientinnen mit CIN1 und 38 Bewertungen von Patientinnen mit CIN2 zusammen.

4.9.1 Beobachtete Schmerzen im Rahmen der NIPP-Behandlung

Der erste Teil des Fragebogens beschäftigte sich mit dem Schmerzerleben der Patientinnen. Die nachfolgende Abbildung 13 veranschaulicht die Ergebnisse der ersten fünf Fragen in Bezug auf den Schmerzverlauf. Die Patientinnen wurden zunächst nach ihrem täglichen Schmerzempfinden befragt, gefolgt von der Erfassung der Schmerzen während der NIPP-Behandlung. Die abschließenden Fragen drei bis fünf erfassten die Schmerzempfindungen nach vier Stunden, nach zwei Tagen und nach einer Woche.

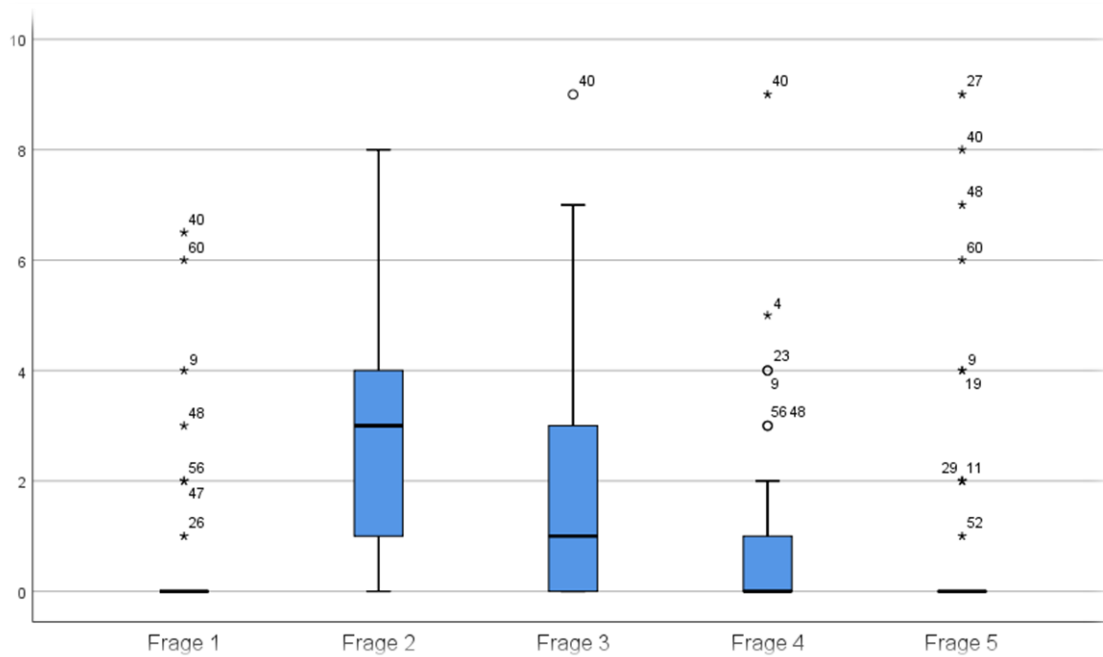


Abbildung 13: Übersicht über das subjektive Schmerzerleben der Patientinnen im Rahmen der NIPP-Behandlung
(Verwendet wurde eine numerische Ratingskala. „0“ entsprach hierbei keinen Schmerzen und „10“ den stärksten vorstellbaren Schmerzen)

Die Ergebnisse in Abbildung 13 zeigen, dass ein Großteil der Patientinnen vor der NIPP-Behandlung keine Schmerzen verspürte. Während der Behandlung berichteten die meisten Teilnehmerinnen von leichten Schmerzen, die vier Stunden postinterventionell weiterhin, jedoch in abgeschwächter Form, vorhanden waren. Zwei Tage nach der Behandlung gaben die Patientinnen eine signifikante Abnahme der Schmerzen an. Nach einer Woche wurden die Schmerzen auf einem vergleichbaren Niveau wie zum Ausgangszeitpunkt beschrieben.

4.9.1.1 Beurteilung der Schmerzen vor NIPP-Behandlung

Die erste Frage erfasste das Schmerzempfinden der Patientinnen vor der NIPP-Behandlung. Hierzu wurden die Teilnehmerinnen gebeten, auf einer numerischen Rating-Skala ihre aktuellen Schmerzen anzugeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 41 dargestellt.

Tabelle 41: Subjektive Schmerzeinschätzung der Patientinnen vor NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten:0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen))

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
Schmerzen vor NIPP-Behandlung	Mittelwert	0,4	0,5	0,4
	Standardabweichung	1,3	1,1	1,4
	Minimum	0	0	0
	Maximum	7	4	7
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	0,0	0,0	0,0
	Perzentil 75	0,0	0,0	0,0

Tabelle 41 verdeutlicht, dass die Mehrzahl der Teilnehmerinnen vor der NIPP-Behandlung keinerlei oder nur sehr geringe Schmerzen verspürte. Der Mittelwert der subjektiven Schmerzeinschätzung betrug 0,4. Zur besseren Veranschaulichung wurden die Werte in Kategorien eingeteilt: Werte zwischen null und eins wurden als „keine Schmerzen“, Werte zwischen zwei und vier als „leichte Schmerzen“, Werte zwischen fünf und sieben als „mäßige Schmerzen“ und Werte zwischen acht und zehn als „starke Schmerzen“ klassifiziert. Diese Kategorisierung fand auch bei den Fragen zwei bis fünf Anwendung.

Tabelle 42: Subjektive Schmerzeinschätzung der Patientinnen vor NIPP-behandlung (kategorisiert)

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
		n (%)	n (%)	n (%)
Schmerzen vor NIPP-Behandlung	keine Schmerzen	54 (90)	18 (81,8)	36 (94,7)
	leichte Schmerzen	4 (6,7)	4 (18,2)	0 (0,0)
	mäßige Schmerzen	2 (3,3)	0 (0,0)	2 (5,3)
	starke Schmerzen	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Aus Tabelle 42 geht hervor, dass 90 Prozent der Patientinnen zu Behandlungsbeginn keine Schmerzen angaben. Vier Patientinnen (6,7%) berichteten von leichten und zwei Patientinnen (3,3%) von mäßigen Schmerzen. Keine Patientin klagte vor der NIPP-Behandlung über starke Schmerzen.

4.9.1.2 Beurteilung der Schmerzen während der NIPP-Behandlung

Die folgende Frage bezog sich auf die während der NIPP-Behandlung empfundenen Schmerzen. Auch hier sollten die Patientinnen ihre Antwort auf einer numerischen Rating-Skala angeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 43 dargestellt.

Tabelle 43: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich während der NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen))

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
Schmerzen während NIPP-Behandlung	Mittelwert	3,0	2,8	3,2
	Standardabweichung	2,2	2,2	2,2
	Minimum	0	0	0
	Maximum	8	8	7
	Perzentil 25	1,0	1,0	0,0
	Median	3,0	2,0	0,0
	Perzentil 75	4,0	4,0	0,0

Wie aus Tabelle 43 ersichtlich, lag das mittlere Schmerzempfinden während der NIPP-Behandlung bei 3,0, wobei die Angaben zwischen null und acht variierten. Tabelle 44 bietet eine kategorisierte Darstellung der Ergebnisse der zweiten Frage.

Tabelle 44: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich während der NIPP-Behandlung (kategorisiert)

		Gesamt (n=60) n (%)	CIN 1 (n=22) n (%)	CIN 2 (n=38) n (%)
Schmerzen während NIPP-Behandlung	keine Schmerzen	21 (35,0)	10 (45,5)	11 (28,9)
	leichte Schmerzen	26 (43,3)	7 (31,8)	19 (50,0)
	mäßige Schmerzen	10 (16,7)	4 (18,2)	6 (15,8)
	starke Schmerzen	3 (5,0)	1 (4,5)	2 (5,3)

21 Patientinnen (35,0%) gaben an, während der NIPP-Behandlung keine Schmerzen verspürt zu haben. Der Großteil (43,3%) berichtete von leichten Schmerzen, während zehn Patientinnen (16,7%) mäßige Schmerzen angaben. Drei Patientinnen (5,0%) empfanden starke Schmerzen.

4.9.1.3 Beurteilung der Schmerzen vier Stunden nach NIPP-Behandlung

Die dritte Frage erfasste das Schmerzempfinden der Patientinnen innerhalb der ersten vier Stunden nach der NIPP-Behandlung. Tabelle 45 stellt die Ergebnisse dar.

Tabelle 45: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich innerhalb der ersten vier Stunden nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen))

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
Schmerzen während der ersten 4h nach NIPP-Behandlung	Mittelwert	2,0	1,5	2,2
	Standardabweichung	2,1	1,6	2,3
	Minimum	0	0	0
	Maximum	9	5	9
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	1,0	1,0	2,0
	Perzentil 75	3,0	2,0	3,0

Vier Stunden nach der NIPP-Behandlung gaben die Patientinnen im Durchschnitt einen Schmerzgrad von 2,0 an. Die Angaben schwankten hier zwischen null und neun. In Tabelle 46 sind die Ergebnisse der dritten Frage in Kategorien zusammengefasst.

Tabelle 46: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich innerhalb der ersten vier Stunden nach NIPP-Behandlung (kategorisiert)

		Gesamt (n=60) n (%)	CIN 1 (n=22) n (%)	CIN 2 (n=38) n (%)
Schmerzen während der ersten 4h nach NIPP-Behandlung	keine Schmerzen	32 (53,3)	14 (63,6)	18 (47,4)
	leichte Schmerzen	19 (31,7)	6 (27,3)	13 (34,2)
	mäßige Schmerzen	8 (13,3)	2 (9,1)	6 (15,8)
	starke Schmerzen	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,6)

Über die Hälfte der Patientinnen (53,3%) berichteten, dass sie innerhalb der ersten vier Stunden keine Schmerzen verspürten. 31,7 Prozent gaben an, leichte Schmerzen zu empfinden, während acht Patientinnen (13,3%) von mäßigen und eine Patientin (1,7%) von starken Schmerzen berichteten.

4.9.1.4 Beurteilung der Schmerzen zwei Tage nach NIPP-Behandlung

Frage vier beschäftigte sich mit dem Schmerzempfinden innerhalb der ersten zwei Tage nach der NIPP-Behandlung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 47 zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 47: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich zwei Tage nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen))

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
Schmerzen 2 Tage nach NIPP-Behandlung	Mittelwert	0,8	1,0	0,7
	Standardabweichung	1,6	1,6	1,5
	Minimum	0	0	0
	Maximum	9	5	9
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	0,0	0,0	0,0
	Perzentil 75	1,0	1,0	1,0

Tabelle 47 zeigt, dass ein Großteil der Patientinnen auf der numerischen Ratingskala geringe Werte markierte. Die Spannbreite der angegebenen Schmerzen erstreckte sich von null bis neun. Tabelle 48 bietet eine kategorisierte Darstellung der Ergebnisse der vierten Frage.

Tabelle 48: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich zwei Tage nach NIPP-Behandlung (kategorisiert)

		Gesamt (n=60) n (%)	CIN 1 (n=22) n (%)	CIN 2 (n=38) n (%)
Schmerzen 2 Tage nach NIPP-Behandlung	keine Schmerzen	51 (85,0)	17 (77,3)	34 (89,5)
	leichte Schmerzen	7 (11,7)	4 (18,2)	3 (7,9)
	mäßige Schmerzen	1 (1,7)	1 (4,5)	0 (0,0)
	starke Schmerzen	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,6)

85 Prozent der Patientinnen empfanden zwei Tage nach der NIPP-Behandlung keinerlei Schmerzen. Leichte Schmerzen traten weiterhin bei sieben Patientinnen (11,7%) auf, während jeweils eine Patientin (1,7%) von mäßigen beziehungsweise starken Schmerzen berichtete.

4.9.1.5 Beurteilung der Schmerzen eine Woche nach NIPP-Behandlung

Abschließend wurden die Patientinnen zu ihrem Schmerzempfinden nach einer Woche befragt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 49 veranschaulicht.

Tabelle 49: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich eine Woche nach NIPP-Behandlung (Antwortmöglichkeiten: 0 (keine Schmerzen) bis 10 (maximale Schmerzen))

		Gesamt (n=59)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=37)
Schmerzen 1 Woche nach NIPP-Behandlung	Mittelwert	0,8	1,3	0,5
	Standardabweichung	2,0	2,5	1,6
	Minimum	0	0	0
	Maximum	9	9	8
	Perzentil 25	0,0	0,0	0,0
	Median	0,0	0,0	0,0
	Perzentil 75	0,0	2,0	0,0

Nach einer Woche lag der Mittelwert auf der numerischen Rating-Skala bei 0,8, wobei die Spannweite der Ergebnisse zwischen null und neun variierte. Tabelle 50 bietet eine kategorisierte Darstellung der Ergebnisse der fünften Frage.

Tabelle 50: Subjektives Schmerzempfinden im Behandlungsbereich eine Woche nach NIPP-Behandlung (kategorisiert)

		Gesamt (n=59) n (%)	CIN 1 (n=22) n (%)	CIN 2 (n=37) n (%)
Schmerzen 1 Woche nach NIPP-Behandlung	keine Schmerzen	50 (84,7)	16 (72,7)	34 (91,9)
	leichte Schmerzen	5 (8,5)	4 (18,2)	1 (2,7)
	mäßige Schmerzen	2 (3,4)	1 (4,5)	1 (2,7)
	starke Schmerzen	2 (3,4)	1 (4,5)	1 (2,7)

Aus Tabelle 50 geht hervor, dass 84,7 Prozent der Patientinnen nach einer Woche keine Schmerzen verspürten. Fünf Patientinnen (8,5%) berichteten nach einer Woche von leichten Schmerzen, während jeweils zwei Patientinnen (3,4%) die Schmerzen als mäßig beziehungsweise stark einstufen.

4.9.2 Beobachtete Nebenwirkungen im Rahmen der NIPP-Behandlung

Die sechste Frage war in zwei Teile gegliedert und erfasste die beobachteten Nebenwirkungen im Behandlungsbereich nach erfolgter NIPP-Behandlung. Im ersten Teil der Frage (Tabelle 51) wurden die Patientinnen gebeten, zu beurteilen, ob Nebenwirkungen auftraten.

Tabelle 51: Tabellarische Darstellung zum Auftreten von Nebenwirkungen

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
		n (%)	n (%)	n (%)
Auftreten von Nebenwirkungen	nein	27 (45,0)	11 (50,0)	16 (42,1)
	ja	33 (55,0)	11 (50,0)	22 (57,9)

Bei allen 63 Patientinnen, die eine NIPP-Behandlung erhielten, wurden keine dosislimitierenden Toxizitäten dokumentiert. 27 Patientinnen (45%) gaben an, keine Nebenwirkungen wahrgenommen zu haben. Die übrigen 33 Patientinnen (55%) berichteten von beobachteten Nebenwirkungen und wurden im zweiten Teil der Frage gebeten, diese in Form eines Freitextes zu beschreiben. Tabelle 52 zeigt die erfasste Anzahl an Nebenwirkungen pro Patientin.

Tabelle 52: Anzahl der angegebenen Nebenwirkungen

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
		n (%)	n (%)	n (%)
Anzahl der angegebenen Nebenwirkungen	0	27 (45,0)	11 (50,0)	16 (42,1)
	1	17 (28,3)	7 (31,8)	10 (26,3)
	2	10 (16,7)	3 (13,6)	7 (18,4)
	3	5 (8,3)	1 (4,5)	4 (10,5)
	4	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	5	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,6)

Am häufigsten (28,3%) wurde das Auftreten einer Nebenwirkung dokumentiert. Seltener wurden zwei (16,7%) oder drei (8,3%) Nebenwirkungen angegeben. In einem Fall (1,7%) wurde von fünf verschiedenen Nebenwirkungen berichtet. Bei näherer Betrachtung der angegebenen Nebenwirkungen zeigte sich, dass bei allen 63 NIPP-behandelten Patientinnen keine akuten dosislimitierenden Toxizitäten festgestellt wurden. Kurzfristige Schmierblutungen wurden mit 29,8 Prozent als die am häufigsten

beobachtete Nebenwirkung dokumentiert. Ein veränderter vaginaler Ausfluss wurde bei 28,1 Prozent der Patientinnen beschrieben. Weitere beobachtete Veränderungen umfassten Brennen (12,3%), Schmerzen (7,0%) sowie ein Ziehen oder Stechen (7,0%). Bei drei Patientinnen traten nach der Behandlung Symptome einer Blasenentzündung auf. Selten wurden Juckreiz (3,5%), Hautirritation (1,8%) oder veränderte Gerüche (1,8%) festgestellt. Alle unerwünschten Ereignisse klangen spontan und ohne Intervention ab.

4.9.3 Auswertung des Freiburger Index für Patientenzufriedenheit

Ab der siebten Frage bezog sich der Fragebogen auf die Zufriedenheit der Patientinnen mit der NIPP-Behandlung, orientiert an den fünf Elementen des FIBS. Die Patientinnen wurden gebeten, anzugeben, inwieweit sie den folgenden Aussagen zustimmen.

Die erste These lautete: „Ich habe die Behandlung selbst als wenig belastend empfunden.“

Tabelle 53: Bewertung der Aussage, ob die Behandlung als wenig belastend empfunden wurde.

		Gesamt (n=59)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=37)
		n (%)	n (%)	n (%)
„Ich habe die Behandlung selbst als wenig belastend empfunden.“	trifft voll und ganz zu	27 (45,8)	10 (45,5)	17 (45,9)
	trifft zu	21 (35,6)	8 (36,4)	13 (35,1)
	trifft eher zu	8 (13,6)	3 (13,6)	5 (13,5)
	trifft eher nicht zu	2 (3,4)	0 (0,0)	2 (5,4)
	trifft nicht zu	1 (1,7)	1 (4,5)	0 (0,0)
	trifft überhaupt nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Die erste Aussage lautete: „Ich habe die Behandlung selbst als wenig belastend empfunden.“ Von den 59 Patientinnen stimmten 27 (45,8%) dieser Aussage „voll und ganz“ zu. Weitere 21 Patientinnen (35,6%) äußerten Zustimmung, während acht Patientinnen (13,6%) angaben, die Aussage „trifft eher zu“. Zwei Patientinnen (3,4%) stimmten mit „eher nicht“ und eine Patientin (1,7%) mit „nicht zu“ überein.

Die nächste Frage thematisierte die Erholung der Patientinnen nach der Behandlung.

Tabelle 54: Bewertung der Aussage, ob sich die Patientinnen nach der Behandlung rasch erholt haben.

		Gesamt (n=59)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=37)
		n (%)	n (%)	n (%)
„Ich habe mich nach der Behandlung rasch erholt.“	trifft voll und ganz zu	38 (64,4)	14 (63,6)	24 (64,9)
	trifft zu	14 (23,7)	6 (27,3)	8 (21,6)
	trifft eher zu	6 (10,2)	2 (9,1)	4 (10,8)
	trifft eher nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	trifft nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	trifft überhaupt nicht zu	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)

Hierbei stimmten 38 von 59 Patientinnen (64,4%) der Aussage „Ich habe mich nach der Behandlung rasch erholt“ „voll und ganz“ zu. Weitere 14 Patientinnen stimmten der Aussage zu, während sechs Patientinnen angaben, die Aussage „trifft eher zu“ bejahen zu können. Eine Patientin äußerte, dass sie der Aussage „überhaupt nicht“ zustimmt.

In Frage neun wurden die Patientinnen aufgefordert, den Behandlungserfolg aus ihrer Sicht zu bewerten.

Tabelle 55: Bewertung der Aussage, ob die Behandlung aus Sicht der Patientinnen ein Erfolg war.

		Gesamt (n=54)	CIN 1 (n=20)	CIN 2 (n=34)
		n (%)	n (%)	n (%)
„Die Behandlung war aus meiner Sicht ein Erfolg.“	trifft voll und ganz zu	16 (29,6)	7 (35,0)	9 (26,5)
	trifft zu	31 (57,4)	11 (55,0)	20 (58,8)
	trifft eher zu	6 (11,1)	2 (10,0)	4 (11,8)
	trifft eher nicht zu	1 (1,9)	0 (0,0)	1 (2,9)
	trifft nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	trifft überhaupt nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Sechs von 60 Patientinnen konnten zu diesem Zeitpunkt keine Aussage zum Behandlungserfolg treffen, da der Fragebogen bereits während des sechsmonatigen Beobachtungszeitraums eingereicht wurde. Folglich basieren die Ergebnisse auf den Angaben von 54 Patientinnen. Unter diesen stimmten 16 Patientinnen (29,6%) der Aussage „Die Behandlung war aus meiner Sicht ein Erfolg“ voll und ganz zu. Mehr als die Hälfte (57,4%) bewertete die Aussage als zutreffend, während sechs Patientinnen (11,1%) angaben, dass die Aussage eher zutreffend sei. Eine Patientin (1,9%) bewertete die Aussage als „eher nicht zutreffend“.

Die vorletzte Frage bezog sich darauf, ob die Patientinnen einer erneuten NIPP-Behandlung zustimmen würden.

Tabelle 56: Bewertung der Aussage, ob die Patientinnen eine erneute Behandlung durchführen lassen würden

		Gesamt (n=60)	CIN 1 (n=22)	CIN 2 (n=38)
		n (%)	n (%)	n (%)
„Ich würde die Behandlung wieder durchführen lassen.“	trifft voll und ganz zu	40 (66,7)	12 (54,5)	28 (73,7)
	trifft zu	16 (26,7)	9 (40,9)	7 (18,4)
	trifft eher zu	2 (3,3)	0 (0,0)	2 (5,3)
	trifft eher nicht zu	2 (3,3)	1 (4,5)	1 (2,6)
	trifft nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	trifft überhaupt nicht zu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Zwei Drittel der Patientinnen (66,7%) stimmten der Aussage „Ich würde die Behandlung wieder durchführen lassen“ voll und ganz zu. Weitere 26,7 Prozent stimmten dieser Aussage zu, während zwei Patientinnen (3,3%) angaben, die Aussage eher zu bejahen. Zwei weitere Patientinnen (3,3%) äußerten, dass sie sich eine erneute Behandlung eher nicht vorstellen könnten.

Abschließend wurden die Patientinnen gebeten, die gesamte NIPP-Behandlung zu bewerten.

Tabelle 57: Abschließende Bewertung der NIPP-Behandlung durch die Studienteilnehmerinnen

		Gesamt (n=58)	CIN 1 (n=21)	CIN 2 (n=37)
		n (%)	n (%)	n (%)
„Insgesamt bewerte ich die Behandlung als ...“	hervorragend	18 (31,0)	7 (33,3)	11 (29,7)
	sehr gut	32 (55,2)	12 (57,1)	20 (54,1)
	gut	7 (12,1)	2 (9,5)	5 (13,5)
	befriedigend	1 (1,7)	0 (0,0)	1 (2,7)
	schlecht	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	sehr schlecht	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Die Ergebnisse zeigen, dass ein Großteil der Patientinnen die Behandlung als „sehr gut“ (55,2%) oder „hervorragend“ (31,0%) bewerteten. Keine der Patientinnen bewertete die Behandlung als „schlecht“ oder „sehr schlecht“.

4.9.3.1 Auswertung des Freiburger Index für Patientenzufriedenheit

Die Berechnung des FIBS-Wertes, basierend auf den zuvor dargestellten fünf Items des Freiburger Index für Patientenzufriedenheit, ergibt für die NIPP-Behandlung einen Wert von 1,7.

5 Diskussion

Die vorliegende monozentrische, prospektive Studie untersuchte über einen Beobachtungszeitraum von sechs Monaten erstmals die Remissionsrate von CIN1/2-Läsionen nach einmaliger NIPP-Behandlung im Vergleich zur Spontanremission. Die Ergebnisse belegen eine signifikante histologische sowie zytologische Remission der leicht- bis mittelgradigen dysplastischen Veränderungen im Rahmen der NIPP-Behandlung. Zusätzlich konnte eine signifikante Reduktion der Inzidenz von hrHPV beobachtet werden. Aufgrund der Tatsache, dass die NIPP-Behandlung ohne anästhesiologische Maßnahmen und unter regulären kolposkopischen Untersuchungsbedingungen durchgeführt werden kann, stellt sie eine zeiteffiziente Behandlungsoption im klinischen Alltag dar. Ein weiterer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass kein Gewebeverlust auftritt, was sie zu einem vielversprechenden Ansatz in der Krebsprävention macht.

Ein verstärktes Interesse an NIPP zur medizinischen Anwendung besteht bereits seit mehreren Jahren. Die vielfältigen Wirkungen von NIPP auf seine Umgebung sind vor allem auf die komplexe Zusammensetzung zurückzuführen. Gegenwertig stehen vor allem zwei Plasmaeffekte im Vordergrund. Zum einen konnte gezeigt werden, dass NIPP eine effektive Inaktivierung von Mikroorganismen ermöglicht, welche auch multiresistente Erreger miteinschließt. Zum anderen wurde beobachtet, dass die NIPP-Behandlung eine Stimulation der Zellproliferation sowie der Mikrozirkulation bewirkt, was zu einer Regeneration zerstörter Gewebeverbände führen kann. Seit einigen Jahren wird zudem intensiv am Einsatz von NIPP im Rahmen onkologischer Therapien geforscht (112).

Das CC ist eine vermeidbare und heilbare Erkrankung, sofern sie frühzeitig erkannt und adäquat behandelt wird. Dennoch bleibt das CC das vierthäufigste Malignom der Frau und verursachte im Jahr 2022 weltweit den Tod von mehr als 350.000 Frauen (11). Das CC spiegelt die globale Ungleichheit wie kaum eine andere Erkrankung wider. Im Jahr 2022 ereigneten sich 94 Prozent der Todesfälle in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen (LMICs) aufgrund einer unzureichenden Abdeckung durch zugängliche HPV-Impfstoffe, Vorsorgeprogramme und Behandlungsmöglichkeiten der Dysplasien (11). Damit stellt das CC ein bedeutsames globales Problem für das Gesundheitssystem

dar. Bereits seit mehreren Jahrzehnten werden verschiedenste Strategien zur Reduktion von Inzidenz, Letalität und Mortalität erprobt. Die beiden wichtigsten Ansätze, um die Entstehung des CC zu vermeiden sind eine flächendeckende HPV-Impfung sowie die Implementierung globaler organisierter Vorsorgeprogramme.

Die Bedeutung des CCs als Gesundheitsproblem hat kürzlich verstärkte Aufmerksamkeit durch die WHO erfahren. Bereits im Mai 2018 kündigte die Generaldirektion der WHO einen weltweiten Aufruf zum Handeln an, welcher die Eliminierung des CC zum Ziel hatte (113). Sie forderten damit alle Mitgliedsstaaten und Interessengruppen auf, mögliche Strategien zu entwickeln, welche Impfung, Screening und Behandlung beinhalten sollten (113,114). Zwei Jahre später, im Jahr 2020, wurde eine globale Strategie zur Bekämpfung des CC entwickelt, welche die sogenannten 90-70-90-Ziele beinhaltet (113). Hintergrund stellt das Wissen darüber dar, dass das CC nach Hochrechnungen eliminierbar wäre, wenn alle Länder Inzidenzraten von unter vier pro 100.000 Frauen erzielen und halten würden (113). Die Verwirklichung dieser Strategie soll bis 2030 erfolgen und basiert auf drei Grundpfeilern und den entsprechenden Zielvorgaben. Diese Zielvorgaben besagen, dass 90 Prozent der Mädchen bis zum 15. Lebensjahr vollständig gegen HPV geimpft sein sollen, 70 Prozent aller Frauen sich im Alter von 35 und 45 Jahren einer Vorsorgeuntersuchung unterziehen sollten und 90 Prozent der Frauen mit Präkanzerosen sowie invasiven Karzinomen behandelt werden müssen (113,114).

In den letzten Jahrzehnten wurde die Pathogenese des CC intensiv erforscht und aktuelle Leitlinien bieten zahlreiche Empfehlungen zur Behandlung zervikaler Dysplasien (8). Ein zentrales Problem besteht jedoch weiterhin darin, dass es bislang nicht möglich ist, sicher vorherzusagen, welche Dysplasien zu einem Karzinom fortschreiten und welche sich zurückbilden. Trotz eines erhöhten Entartungsrisikos bei höhergradigen Dysplasien besteht auch bei diesen die Möglichkeit einer vollständigen Remission. Dieses Unvermögen zur präzisen Vorhersage führt in der Praxis zu einer Übertherapie, bei der oft invasive Behandlungen durchgeführt werden, obwohl dies nicht immer notwendig wäre. Die derzeit gängigen Exzisions- und Destruktionsmethoden sind seit vielen Jahren Teil der klinischen Routine, gehen jedoch mit Risiken wie Anästhesie, Schmerzen und einem erhöhten Frühgeburtsrisiko einher. In diesem Zusammenhang bietet die NIPP-Therapie aufgrund ihrer einfachen und gewebeschonenden Anwendung ohne

anästhesiologische Maßnahmen einen vielversprechenden neuen Ansatz zur Krebsprävention.

Interpretation der histologischen Ergebnisse:

In der vorliegenden Studie wurde als primärer Endpunkt die histologische Komplettremissionsrate von CIN1/2 nach NIPP-Behandlung definiert. Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurden bei den Patientinnen während der dritten und vierten Studienvisite unter kolposkopischer Sicht Probeexzisionen der Cervix uteri entnommen. Diese Gewebeproben wurden anschließend histopathologisch und immunhistochemisch aufbereitet, um das Vorliegen von CIN zu detektieren.

Zu Beginn der Studie zeigten sich signifikante Unterschiede in der Verteilung der Dysplasiestadien zwischen NIPP- und Kontrollgruppe, basierend auf den Ergebnissen des Mann-Whitney-U-Tests ($p < 0,001$). In der NIPP-Gruppe wiesen 36,5 Prozent der Patientinnen eine leicht- und 63,5 Prozent eine mittelgradige Dysplasie auf. Im Gegensatz dazu betragen die Anteile der Kontrollgruppe 71,8 Prozent für CIN1 und 28,2 Prozent für CIN2. Um diesen Unterschied bei der initialen Bewertung zu berücksichtigen, wurde der Behandlungserfolg sowohl für die gesamte Kohorte als auch getrennt für die Subgruppen CIN1 und CIN2 analysiert.

In der NIPP-Gruppe wiesen nach drei Monaten 50 Patientinnen keine weiteren abnormen histologischen Befunde auf, was einer Komplettremissionsrate von 86,2 Prozent entspricht ($p < 0,001$, ermittelt durch asymptotischen Wilcoxon-Test). Eine Progression der CIN trat bei zwei Patientinnen (3,4%) der NIPP-Gruppe und bei 58 Patientinnen (20,2%) der Kontrollgruppe auf. In der Subgruppe CIN1 konnten ebenfalls nach drei Monaten signifikante Veränderungen festgestellt werden (NIPP: $p < 0,001$, Kontrolle: $p < 0,001$, ermittelt durch asymptotischen Wilcoxon-Test). In der Subgruppe CIN1 betrug die Komplettremissionsrate der NIPP-Gruppe 95,2 Prozent und war damit mehr als doppelt so hoch wie in der Kontrollgruppe (46,1%). Auch bei den Progressionsraten zeigten sich deutliche Unterschiede: Während nur eine Patientin (4,8%) der NIPP-Gruppe eine Progression aufwies, lag die Progressionsrate in der Kontrollgruppe bei 17,5 Prozent. Ähnliche Ergebnisse konnten in der Subgruppe CIN2 beobachtet werden (NIPP: $p <$

0,001, Kontrolle: $p < 0,001$, ermittelt durch asymptotischen Wilcoxon-Test). In der NIPP-Gruppe kam es bei 27 Patientinnen (79,4%) zu einer histologischen Komplettremission, während bei drei Patientinnen (2,7%) eine Progression auftrat. In der Kontrollgruppe lag die Komplettremissionsrate bei 25,9 Prozent, während 27,2 Prozent der Patientinnen eine Progression zeigten. Nach drei Monaten wurde basierend auf histologischen und zytologischen Befunden sowie nach individueller risikoadaptierter Beratung bei vier Patientinnen der NIPP-Gruppe (7,3%) und bei 72 Patientinnen der Kontrollgruppe (25,1%) eine Intervention durchgeführt.

Zwischen der dritten und vierten Studienvisite konnten keine signifikanten Veränderungen der histologischen Befunde beobachtet werden. In der NIPP-Gruppe sank die Komplettremissionsrate von 86,2 auf 80,0 Prozent, während die Progressionsrate von 3,4 auf 5,5 Prozent anstieg. Zudem wurde bei vier Patientinnen (7,3%) zwischen der dritten und vierten Studienvisite eine Intervention durchgeführt. In der Kontrollgruppe stieg die Komplettremissionsrate leicht von 40,4 auf 44,9 Prozent, während die Progressionsrate von 20,2 auf 10,1 Prozent sank. Nach der dritten Studienvisite erfolgte bei 25,1 Prozent der Patientinnen eine Intervention. Im Vergleich zum Ausgangszeitpunkt lag nach sechs Monaten weiterhin ein signifikanter Unterschied zwischen den Remissionsraten vor ($p < 0,001$, ermittelt durch Mann-Whitney-U-Test für verbundene Stichproben). Ähnliche Ergebnisse konnten auch in den Subgruppen CIN1 und CIN2 festgestellt werden (CIN1: $p = 0,005$, CIN2: $p < 0,001$, ermittelt durch Mann-Whitney-U-Test für verbundene Stichproben).

Um die erhobenen Daten besser einzuordnen, erfolgte ein Vergleich der Studienergebnisse mit Referenzwerten der Literatur (8). Die S3-Leitlinie differenziert die Remissionsraten ebenfalls anhand der dreistufigen CIN-Klassifikation. In der Literatur finden sich jedoch nur Angaben zu Remission, Persistenz und Progression. Um die Vergleichbarkeit in der Auswertung zu gewährleisten, wurden daher Teilremissionen als Remission und erforderliche Interventionen als Progression eingestuft. Gemäß der Literatur (8) liegt die Remissionsrate bei CIN1 bei 60,0 Prozent. Diese Remissionsrate wurde in der NIPP-Gruppe um 25,7 Prozent übertroffen und erreichte somit 85,7 Prozent. Die Kontrollgruppe zeigte eine leicht niedrigere Remissionsrate von 51,9 Prozent im Vergleich zum Referenzwert. Die Progressionsrate der NIPP-Gruppe lag mit 9,5 Prozent geringfügig unter dem Literaturreferenzwert von 10,0 Prozent, während die

Progressionsrate der Kontrollgruppe mit 28,7 Prozent deutlich über dem Literaturwert lag. Zudem trat in beiden Gruppen seltener eine Persistenz des Befundes auf als in der Literatur beschrieben (NIPP: 4,8%, Kontrolle: 19,4%, Literatur: 30,0%). Die Analyse der Daten von mittelgradigen Dysplasien führte zu vergleichbaren Ergebnissen. Die Remissionsrate der NIPP-Gruppe lag mit 79,4 Prozent erneut deutlich über den Werten der Kontrollgruppe (35,8%) und den in der Literatur angegebenen Werten (40,0%). Die Progressionsrate der NIPP-Gruppe betrug 14,7 Prozent und lag damit leicht unter den Literaturangaben (20,0%), während die Progressionsrate in der Kontrollgruppe mit 51,3 Prozent deutlich höher war. Auch bei der Befundpersistenz zeigten beide Gruppen im Vergleich zur Literatur deutlich niedrigere Ergebnisse (NIPP: 5,9%, Kontrolle: 12,3%, Literatur: 40,0%).

Sowohl bei leicht- als auch bei mittelgradigen Dysplasien zeigte die NIPP-Therapie im Vergleich zum abwartenden Verhalten bessere Remissionsraten. Besonders eindrücklich imponierte das Ergebnis der NIPP-Behandlung bei CIN2. Während das abwartende Verhalten nur bei 40,0 Prozent der Patientinnen eine Remission zur Folge hatte, konnten mittels NIPP- Behandlung fast doppelt so viele Remissionen erzielt werden. Des Weiteren war auffällig, dass die Kontrollgruppe im Vergleich zu den Angaben der Literatur schlechtere Werte bezüglich Remissions- und Progressionsrate aufwies. Dies könnte dadurch verschuldet sein, dass sich die Kontrollgruppe aus Patientinnen einer universitären Dysplasiesprechstunde zusammensetzte. Somit fanden sich innerhalb der Kontrollgruppe mehrere Patientinnen mit Rezidiven oder lang persistierenden histologischen Auffälligkeiten. Da die Patientinnen der NIPP-Gruppe dem gleichen Kollektiv angehörten, unterstreicht dies die Wertigkeit der gewonnenen Daten.

Der Vergleich mit etablierten Therapiestrategien zeigt ebenfalls, dass die NIPP-Therapie vielversprechende Ergebnisse liefert. Pinder et al. führen derzeit eine klinische Studie (NCT02956239) durch, um die Effektivität von Wärmeablation, Kryoablation und der LLETZ bei der Behandlung von CIN zu evaluieren. In der Pilotphase dieser Studie wurden nach einem Beobachtungszeitraum von sechs Monaten Erfolgsraten von 60% für die Kryoablation, 64% für die Wärmeablation und 67% für LLETZ festgestellt. Der Therapieerfolg wurde anhand der Elimination von HPV-Infektionen oder einer negativen Kolposkopie beurteilt. Dennoch könnte diese Definition des Therapieerfolgs die tatsächliche Wirksamkeit der Verfahren überschätzen, da CIN in den tiefen Drüsen des

Gebärmutterhalses persistieren können und somit möglicherweise nicht vollständig visuell erfasst wurden (115).

Eine wesentliche Stärke der vorliegenden Studie liegt in der Durchführung kolposkopisch gesteuerter Biopsien zur Bestimmung der histologischen Remission, was eine höhere Genauigkeit bietet als die rein visuelle Inspektion mit Bewertung des postinterventionellen HPV-Status wie beispielsweise von Pinder et al. verwendet (69).

Allerdings wurden im Rahmen der vorliegenden Studie ausschließlich CIN1/2-Läsionen untersucht, obwohl CIN3-Läsionen typischerweise das Hauptziel etablierter therapeutischer Strategien darstellen. Diese Fokussierung auf CIN1/2 war notwendig, um die grundlegende Wirksamkeit der NIPP-Behandlung im Vergleich zur Spontanremission zu evaluieren. Die Ergebnisse bieten wertvolle erste Einblicke in das Potenzial der NIPP-Behandlung bei leicht- und mittelgradigen Dysplasien. Dennoch bleibt offen, ob diese innovative Therapieform auch bei hochgradigen Läsionen, wie CIN3, vergleichbare Ergebnisse erzielen kann. CIN3-Läsionen sind von besonderer klinischer Bedeutung, da sie ein signifikant höheres Risiko für die Progression zum CC aufweisen. Studien belegen, dass die jährliche Progressionsrate von CIN3-Läsionen zum CC bei ein bis zwei Prozent liegt, weshalb die operative Therapie gemäß den derzeitigen Leitlinien empfohlen wird (8,116). Aufgrund dieses erhöhten Risikoprofils gelten CIN3-Läsionen als primäre Zielläsion für therapeutische Interventionen.

Zukünftige Studien sollten sich daher auf die Untersuchung der Wirksamkeit der NIPP-Therapie bei CIN3-Läsionen fokussieren. Dabei wäre ein direkter Vergleich mit etablierten Standardverfahren von besonderem Interesse, um das therapeutische Potenzial der NIPP-Behandlung umfassend bewerten zu können. Nur durch eine solche Vergleichsanalyse können die klinischen Anwendungsmöglichkeiten und der tatsächliche Nutzen der NIPP-Therapie für CIN3-Läsionen validiert werden.

Interpretation der zytologischen Ergebnisse:

In der vorliegenden Studie erfolgten ebenfalls zytologische Untersuchungen, um die Wirksamkeit der NIPP-Behandlung mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen. In der NIPP-Gruppe wurden während allen vier Studienvisiten zytologische Abstriche der

Portiooberfläche unter kolposkopischer Sicht entnommen. Innerhalb der Kontrollgruppe erfolgten zytologische Abstriche während der ersten, dritten und vierten Studienvisite.

Beide Gruppen waren hinsichtlich ihrer Ausgangsverteilung an zytologischen Befunden vergleichbar. Eine statistische Analyse mittels Mann-Whitney-U-Test ($n = 348$) zeigte zum Ausgangszeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen NIPP- und Kontrollgruppe ($p = 0,593$). Diese Gleichheit bestätigte sich sowohl für die Patientinnen mit dem Ausgangsbefund einer CIN1 ($n = 227$, $p = 0,051$) als auch für diejenigen mit einer CIN2 ($n = 121$, $p = 0,785$). Drei Monate nach Beginn der Studie wiesen beide Kohorten eine signifikante Verbesserung der durchschnittlichen PAP-Abstriche auf. In der NIPP-Gruppe war diese Verbesserung besonders ausgeprägt ($p < 0,001$), aber auch in der Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikanter Effekt ($p = 0,003$). Dabei wurden in der NIPP-Gruppe bei 53,4 Prozent der Patientinnen unauffällige PAP-Abstriche dokumentiert, während dieser Anteil in der Kontrollgruppe nur 28,4 Prozent betrug. Eine Verschlechterung der zytologischen Befunde auf einen schwerwiegenden PAP IV-A trat in beiden Gruppen nur bei einer kleinen Anzahl von Patientinnen auf (NIPP: 1,7%, Kontrolle: 6,0%). Nach sechs Monaten (vierte Studienvisite) setzte sich dieser Trend fort, wobei in beiden Gruppen ein weiterer Anstieg unauffälliger zytologischer Befunde beobachtet wurde. In der NIPP-Gruppe betrug der Anteil unauffälliger Befunde 54,5 Prozent, während die Kontrollgruppe 35,8 Prozent erreichte. Der Anteil der Patientinnen mit PAP-Befunden der Gruppe III nahm in beiden Gruppen ab (NIPP: 12,7%, Kontrolle: 23,4%). In der NIPP-Gruppe zeigten 52,7 Prozent der Patientinnen eine Verbesserung der zytologischen Befunde, bei 21,8 Prozent blieben die Befunde unverändert und bei 25,5 Prozent wurde eine Verschlechterung festgestellt. In der Kontrollgruppe zeigte sich eine Verbesserung der zytologischen Befunde bei 37,9 Prozent der Patientinnen, bei 25,9 Prozent blieben die Befunde unverändert und bei 36,2 Prozent trat eine Verschlechterung ein. Der asymptotische Wilcoxon-Test bestätigte, eine signifikante Veränderung innerhalb der Kontrollgruppe ($p < 0,001$) sowie eine deutliche, jedoch nicht signifikante Veränderung innerhalb der NIPP Gruppe ($p = 0,051$).

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die NIPP-Behandlung im Vergleich zur Spontanremission eine tendenziell stärkere Verbesserung der zytologischen Befunde erzielt.

Beim Vergleich der histologischen Komplettremission mit der zytologischen Befundverbesserung zeigt sich, dass nach der NIPP-Behandlung 80,0 Prozent der Patientinnen eine vollständige histologische Remission erreichten, während lediglich bei 52,7 Prozent der Patientinnen eine Verbesserung der zytologischen Befunde beobachtet wurde. Der Unterschied zwischen den histologischen und zytologischen Ergebnissen könnte auf die Entstehung strahleninduzierter Atypien zurückzuführen sein, ein gut dokumentiertes Phänomen im Zusammenhang mit Bestrahlung. Diese Atypien können zu Fehlinterpretationen von PAP-Abstrichen führen und somit die diagnostische Genauigkeit beeinträchtigen (117). Aus diesem Grund sind eine sorgfältige Überwachung und eine präzise Interpretation der zytologischen Ergebnisse von besonderer Bedeutung.

Interpretation der kolposkopischen Ergebnisse:

Ein weiterer sekundärer Endpunkt der Studie bestand in der Beurteilung der T-Zone nach erfolgter NIPP-Behandlung.

Zu Beginn der Studie wiesen etwa 80 Prozent der Patientinnen eine T1 und 20 Prozent eine T2 auf. Im Rahmen des sechsmonatigen Nachbeobachtungszeitraums zeigten 70,6 Prozent der Patientinnen einer Verlagerung der T-Zone nach intrazervikal. Lediglich bei einer Patientin wurde eine Verlagerung nach extrazervikal registriert, während bei 27,5 Prozent der Patientinnen keine Veränderung der T-Zone detektiert wurde. Mithilfe des durchgeführten asymptotischen Wilcoxon-Tests konnte das Ergebnis als signifikant bestätigt werden ($p < 0,001$). Bei dem Großteil der Patientinnen ereignete sich die Verlagerung der T-Zone bereits innerhalb der ersten drei Monate nach Behandlung. Lediglich bei einem kleinen Anteil der Patientinnen erfolgte die Verlagerung zwischen dem dritten und sechsten Monat.

Vergleichbare Verlagerungen der T-Zone sind ebenfalls nach etablierten destruktiven und exzisionalen Behandlungsverfahren zu beobachten (118). Diese Ergebnisse können weitreichende Folgen für die weitere Vor- beziehungsweise Nachsorge der meist jungen Patientinnen haben. Der beobachtete Effekt ist im Hinblick auf die künftigen Vorsorgeuntersuchungen eher ungünstig, da Kolposkopien, bei denen die T-Zone nicht vollständig eingesehen werden kann – wie es bei einer T3 der Fall ist – als inadäquat oder

unzureichend gelten (23). Eine T3 ist deshalb so problematisch, da sie schwerer zugänglich ist, was die Beurteilbarkeit sowie die gezielte Probenentnahme unter kolposkopischer Sicht erheblich einschränkt. Ob es sich bei der beobachteten Verlagerung nach NIPP-Behandlung um einen transienten oder einen persistenten Effekt handelt, bleibt derzeit unklar. Für einen transienten Effekt spricht, dass bei der Therapie keine Narben entstehen und physiologisches Gewebe neu gebildet wird. Auch könnte der hormonelle Einfluss von Östrogenen und Gestagenen bei jungen Frauen zu einer erneuten Verlagerung der T-Zone in den ektozervikalen Bereich führen. Sollte es sich jedoch um einen persistenten Effekt handeln, könnte es sinnvoll sein, die Einsehbarkeit der T-Zone vor Kolposkopien durch eine gezielte Östrogenisierung zu verbessern (23). Diese erfolgt normalerweise als passagere lokale oder systemische Anwendung von Östrogenen über einen Zeitraum von vier Wochen, wobei die Behandlung etwa eine Woche vor der Kolposkopie pausiert werden sollte (23,119). Für zukünftige Forschungen ist ein längerer Nachbeobachtungszeitraum notwendig, um die beobachteten Effekte genauer einordnen zu können. Dies würde Aufschluss darüber geben, ob die Veränderung der T-Zone tatsächlich dauerhaft oder vorübergehend ist. Darüber hinaus könnte so geklärt werden, wie sich eine T3-Verlagerung auf die weitere Vorsorge auswirkt, insbesondere im Hinblick auf die zukünftige Erkennung und Behandlung potenzieller Rezidive bei betroffenen Patientinnen.

Interpretation der virologischen Ergebnisse:

Ein weiterer wichtiger sekundärer Endpunkt der Studie bestand darin, zu untersuchen, inwieweit sich die Inzidenz von HPV-Infektionen nach NIPP-Behandlung verändert. Zu diesem Zweck wurden sowohl vor NIPP-Behandlung als auch sechs Monate danach virologische Abstriche entnommen und analysiert.

Zu Beginn der Studie wiesen 74,6 Prozent der Studienteilnehmerinnen ein positives Abstrichergebnis für eine hrHPV-Infektion auf, wobei der Anteil bei Patientinnen mit CIN2 höher war als bei Patientinnen mit CIN1 (CIN1 60,9%, CIN2 82,5%). LrHPV-Infektionen wurden bei lediglich 13,2 Prozent der Studienteilnehmerinnen festgestellt (CIN1 15,0%, CIN2 12,1%). Mithilfe des McNemar-Tests (n = 48) konnte über den Untersuchungszeitraum eine signifikante Reduktion der hrHPV-Infektionen

nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Eine differenzierte Betrachtung der Subgruppen ergab in der CIN1-Gruppe ($n = 20$) keine statistisch signifikante Reduktion ($p = 0,063$), während in der CIN2-Gruppe ($n = 28$) eine signifikante Reduktion der hrHPV-Inzidenz beobachtet wurde ($p = 0,003$).

Die Ergebnisse dieser Studie werfen die Frage auf, ob die NIPP-Behandlung als mögliche Therapieoption für HPV-Infektionen in Betracht gezogen werden könnte. Da bislang keine medikamentöse oder anderweitige Behandlung zur direkten Beseitigung einer HPV-Infektion verfügbar ist, besteht die derzeit effektivste Strategie darin, die durch HPV-Infektionen induzierten zellulären Veränderungen frühzeitig zu erkennen und zu behandeln, um schwerwiegende Folgeerkrankungen wie beispielsweise das CC zu verhindern (120). Die signifikante Reduktion der hrHPV-Inzidenz sechs Monaten nach NIPP-Behandlung deutet darauf hin, dass NIPP eine vielversprechende Behandlungsoption für hrHPV-Infektionen sein könnte. Um die langfristige Wirksamkeit der NIPP-Behandlung besser beurteilen zu können, wäre jedoch eine genauere Analyse der verschiedenen HPV-Typen notwendig gewesen, da in der vorliegenden Studie lediglich das Vorhandensein von hrHPV- oder lrHPV-Infektionen erfasst wurde, ohne eine Differenzierung der spezifischen HPV-Subtypen vorzunehmen. Eine detaillierte Untersuchung der Typen und ihrer spezifischen Clearance wäre von großem Interesse gewesen, um die Ergebnisse der Studie fundiert interpretieren zu können.

Für eine vollständige Bewertung der NIPP-Therapie wäre es zudem hilfreich gewesen, die erzielten Studienergebnisse mit Referenzdaten zu Spontanremission von HPV-Infektionen zu vergleichen. Bisherige Studien zu diesem Thema sind jedoch begrenzt, insbesondere was vergleichbare Nachbeobachtungszeiträume betrifft. Es besteht weiterhin Konsens darüber, dass die meisten HPV-Infektionen transiente Verläufe aufweisen und nach ein bis zwei Jahren nicht mehr nachweisbar sind (4). In einer Studie von Ho et al. wurde eine durchschnittliche Dauer der Infektion von sechs bis neun Monaten beschrieben (121). Darüber hinaus konnte die Arbeitsgruppe um Ho zeigen, dass etwa 70 Prozent der HPV-Infektionen innerhalb eines Jahres vom Immunsystem eliminiert werden (121). Diese Ergebnisse werden durch Untersuchungen von Schiffmann et al. gestützt, die nachweisen, dass etwa 90 Prozent der HPV-Infektionen bei Personen mit intaktem Immunsystem nach zwei Jahren nicht mehr nachweisbar sind (44).

Die vorliegende Studie umfasst jedoch einen kürzeren Nachbeobachtungszeitraum und fokussiert sich ausschließlich auf Frauen mit bereits bestehenden Dysplasien. Diese methodischen Unterschiede erschweren die Vergleichbarkeit mit anderen Studien, insbesondere da die in dieser Studie untersuchte Kohorte vermutlich überwiegend persistente hrHPV-Infektionen aufwies. Daraus ergibt sich die Frage, ob es sich bei den in dieser Studie beobachteten hrHPV-Infektionen tatsächlich um persistente Infektionen handelte. Die Unterscheidung zwischen transienten und persistenten HPV-Infektionen ist von großer Bedeutung, da transiente Infektionen in der Regel durch das Immunsystem innerhalb weniger Monate eliminiert werden und ein geringeres Risiko für die Entwicklung von CIN oder CC bergen. Persistente Infektionen hingegen bleiben über einen längeren Zeitraum bestehen und sind mit einem höheren Risiko der Entwicklung pathologischer Veränderungen assoziiert. Da die Dauer der HPV-Infektionen bei den Studienteilnehmerinnen vor Beginn der Behandlung nicht erfasst wurde, bleibt unklar, ob die beobachteten Effekte der NIPP-Therapie bei persistenten oder transienten Infektionen beobachtet wurden.

Sollte die NIPP-Therapie nachweislich eine wirksame Behandlungsmöglichkeit für persistente, also besonders risikobehaftete hrHPV-Infektionen darstellen, könnte sie zu einer bedeutenden therapeutischen Option werden. Zukünftige Studien sollten daher nicht nur die Effektivität der NIPP-Behandlung bei der Eradikation von hrHPV untersuchen, sondern auch die Dauer der HPV-Infektion vor der Therapie mitberücksichtigen. Mit diesen Informationen könnte die NIPP-Therapie gezielt zur Behandlung von Patientinnen mit persistierenden Infektionen eingesetzt werden, um das Risiko der Entwicklung schwerwiegender CIN und letztlich des CC zu minimieren.

Die Frage, ob der Therapieerfolg der NIPP-Behandlung durch die Kombination mit einer adjuvanten HPV-Impfung weiter verbessert werden kann, rückt angesichts der hohen Rezidivrate nach konventionellen Behandlungen der CIN in den Mittelpunkt der Forschung. Innerhalb der ersten zehn Jahre nach Therapie einer CIN2/3-Läsion erleben bis zu 18 Prozent der Patientinnen ein Rezidiv (122). Diese hohe Rückfallquote unterstreicht die Notwendigkeit einer engmaschigen Nachsorge und betont das Potential der adjuvanten HPV-Impfung als ergänzende Maßnahme, um das Risiko erneuter Infektionen und Dysplasien zu reduzieren.

Die HPV-Impfung könnte somit nicht nur präventiv, sondern auch als therapeutische Ergänzung eingesetzt werden, um die Rezidivrate zu senken und langfristig den Schutz vor HPV-bedingten Neoplasien zu verbessern. Einer der Hauptgründe für die hohe Rezidivrate liegt darin, dass eine durchgemachte HPV-Infektion keinen verlässlichen Schutz vor einer Reinfektion bietet (123). Die natürliche Immunität nach einer HPV-Infektion vermittelt keinen langanhaltenden Schutz, da die Antikörpertiter nach der Infektion oft nur eine begrenzte Effektivität gegen erneute Infektionen mit demselben HPV-Typ aufweisen (3,123). Im Gegensatz dazu zeigen impfinduzierte Antikörper einen anhaltenden und verlässlichen Titer über mehrere Jahre, aktuell dokumentiert über einen Zeitraum von über zehn Jahren (124). Besonders relevant ist, dass Personen mit einer bestehenden natürlichen Antikörperantwort durch die HPV-Impfung eine sogenannte anamnestiche Antwort entwickeln können (125). Diese immunologische Reaktion ist nachweislich stärker und effektiver als die natürliche Immunität nach einer durchgemachten Infektion (125).

Ein weiteres Argument für die Durchführung einer peri- oder postinterventionellen Impfung liegt darin, dass Frauen, die eine CIN entwickelt haben, oft die ursprüngliche HPV-Infektion nicht ausreichend bekämpfen konnten (126). Dies könnte darauf hindeuten, dass sie eine immunologische Inkompetenz aufweisen, die es ihnen erschwert, die Infektion und die daraus resultierende Dysplasieentwicklung erfolgreich zu kontrollieren (126,127). Während etwa 90 Prozent der Frauen eine HPV-Infektion immunologisch erfolgreich kontrollieren können, besteht bei fünf bis zehn Prozent der Betroffenen ein erhöhtes Risiko für persistierende oder rezidivierende Dysplasien (127). Diese Patientinnen entwickeln keine protektive Immunität und können durch erneute Exposition, beispielsweise durch denselben Partner, erneut infiziert werden (128). Somit besteht bei dieser Risikogruppe die Möglichkeit einer erneuten Infektion oder einer Rezidivierung der ursprünglichen Dysplasie. Hier kann eine postinterventionelle HPV-Impfung eine sinnvolle prophylaktische Maßnahme darstellen, um das Risiko für erneute oder persistierende Infektionen zu reduzieren.

In den letzten Jahren befassten sich viele Studien mit dem Einfluss einer adjuvanten HPV-Impfung auf die Entstehung von Rezidiven nach erfolgter CIN-Therapie. Besonders hervorzuheben sind drei Metaanalysen von Di Donato et al. (129), Jentschke et al. (130) und Lichter et al. (131), die übereinstimmend vielversprechende Ergebnisse lieferten.

Diese Studien zeigen, dass die Rezidivrate durch eine adjuvante HPV-Impfung nach operativer CIN-Behandlung um etwa 65 Prozent gesenkt werden kann (132). Dies bedeutet, dass zwei bis drei Prozent der adjuvant geimpften Frauen von dieser Maßnahme profitieren, was einer „Number needed to vaccinate“ von 46 entspricht (132).

Im Jahr 2021 veröffentlichte Di Donato et al. eine elf Studien umfassende Metaanalyse mit einer Gesamtzahl von 21.310 Patientinnen (129). Alle Patientinnen wiesen präoperativ eine histologisch gesicherte CIN2/3-Läsion auf. Der Nachuntersuchungszeitraum betrug in allen untersuchten Studien zwischen 6 und 60 Monaten. Die Altersverteilung der Patientinnen lag zwischen 15 und 89 Jahren. Von den untersuchten Patientinnen erhielten 19 Prozent (4039 Patientinnen) eine therapiebegleitende HPV-Impfung. Die Analysen ergaben, dass das Risiko, ein Rezidiv zu entwickeln, in der geimpften Gruppe 65 Prozent niedriger war als in der ungeimpften. Zudem ließ sich eine deutliche Reduktion der HPV-Persistenz in der geimpften Gruppe erkennen (129).

Ähnlich positive Ergebnisse wurden in einer weiteren Metaanalyse von Jentsch et al. aus dem Jahr 2020 berichtet (130). Diese Analyse berücksichtigte bis auf die Daten einer retrospektiven Studie von Bogani et al. (133) aus dem Jahr 2020 mit 300 Patientinnen dieselben Studien wie die Metaanalyse von Di Donato et al. (129). Ergänzt wurde die Auswertung jedoch durch eine detaillierte Betrachtung der Rezidivraten in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Rückgang der Rezidivraten zwischen jüngeren und älteren Patientinnen, was darauf hindeutet, dass die Wirksamkeit der Impfung unabhängig vom Alter ist. Darüber hinaus ermittelten Jentsch et al. eine „Number needed to vaccinate“ von 45,5, was bedeutet, dass 45,5 Frauen geimpft werden müssten, um ein Rezidiv einer CIN2- oder höhergradigen Läsion zu verhindern. Auf der Grundlage der deutschen Daten könnte die Rezidivrate bei den circa 52.600 jährlichen Konisationen durch eine postoperative HPV-Impfung von 2790 auf 1630 Fälle pro Jahr gesenkt werden. Insbesondere zeigte sich eine signifikante Risikoreduktion bei den HPV-Typen 16 und 18, die mit einem erhöhten Risiko für Gebärmutterhalskrebs assoziiert sind (130).

Die Metaanalyse von Lichter et al. aus dem Jahr 2020 lieferte ähnliche Ergebnisse (131). Die Studie umfasste insgesamt 2984 Patientinnen im Alter von 15 bis 45 Jahren. Im

Vergleich zu den zuvor erwähnten Metaanalysen wurde von Lichter et al. ein kürzerer Nachbeobachtungszeitraum gewählt, welcher 6 bis 48 Monate betrug. Es konnte gezeigt werden, dass durch die adjuvante HPV-Impfung eine Reduktion des Rezidivrisikos von 5,5 Prozent auf 1,9 Prozent erzielt werden konnte, was einer absoluten Risikoreduktion von 65,5 Prozent entspricht (131).

Aktuell laufen drei weitere große randomisierte, prospektive Studien, die die Wirkung des nonavalenten HPV-Impfstoffs Gardasil® 9 in der postoperativen Anwendung untersuchen. Diese Studien, die 2019 mit der Rekrutierung begannen, zielen darauf ab, die Wirksamkeit des Impfstoffs bei der Prävention von Rezidiven nach operativer Behandlung von CIN2/3-Läsionen zu evaluieren. Die Ergebnisse dieser Studien werden voraussichtlich im Jahr 2025 erwartet und können wichtige Erkenntnisse zur Rolle der adjuvanten HPV-Impfung in der Langzeittherapie liefern (130).

Nach den aktuellen STIKO-Empfehlungen ist die HPV-Impfung für Frauen über dem 18. Lebensjahr zugelassen, was den Einsatz einer adjuvanten Impfung auch in dieser Altersgruppe unterstützt. Eine individuelle Nutzen-Risiko-Bewertung ist dabei entscheidend, um die potenziellen Vorteile einer nachträglichen Impfung optimal auszuschöpfen. Die Empfehlungen der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) stützen ebenfalls die Flexibilität dieser Impfstrategie, indem sie betonen, dass eine Immunisierung gegen HPV ab einem Alter von neun Jahren für alle Personen möglich ist. Auch wenn die HPV-Impfung keine therapeutische Wirkung auf bestehende HPV-Infektionen oder CIN hat, zeigen die oben aufgeführten Studien, dass sie mit einer signifikanten Reduktion der Rezidivrate von CIN assoziiert ist. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass eine HPV-Impfung nach Abschluss einer Therapie sinnvoll sein könnte, um das Risiko für das Wiederauftreten von Dysplasien zu senken.

Kritisch im Rahmen dieser Arbeit ist jedoch zu betrachten, dass ausschließlich p16^{INK4a} als Biomarker bestimmt wurde und nicht die Kombination aus p16^{INK4a} und Ki-67. Die alleinige Verwendung von p16^{INK4a} als Biomarker, insbesondere in der prognostischen Stratifizierung von zytologischen Befunden bei CIN1/2, hat bislang keine zufriedenstellenden Ergebnisse gezeigt (80). Als ein Bestandteil der inhibitorischen Kaskade am G1-Checkpoint ist p16^{INK4a} zwar ein wichtiger Indikator, jedoch führt seine alleinige Anwendung häufig zu unspezifischen Befunden, da es auch in physiologisch

proliferationssupprimierten Zellen wie Metaplasien, Atrophien und postpartalen Veränderungen immunzytochemisch nachweisbar ist (134). Dies kann die Interpretation erschweren, da p16^{INK4a} in einigen zytologischen Präparaten Zellen markiert, die keine tatsächliche maligne Transformation aufweisen, sondern aufgrund von Differenzierungsstörungen exprimiert werden (76). Solche Zellen sind zwar im Zellzyklus arretiert und von der Proliferation ausgeschlossen, zeigen jedoch keine Expression von Proliferationsmarkern wie Ki-67 (76).

Der zusätzliche Nachweis des Proliferationsmarkers Ki-67 bietet in Kombination mit p16^{INK4a} jedoch eine effektivere und spezifischere Methode zur Identifizierung von Zellen mit tatsächlichem malignem Potenzial (76). Die gleichzeitige Expression von p16^{INK4a} und Ki-67 in derselben Zelle weist auf eine Deregulierung des Zellzyklus hin, da unter normalen physiologischen Bedingungen die Koexpression eines tumorsupprimierenden Proteins wie p16^{INK4a} und eines Proliferationsmarkers wie Ki-67 in einer Zelle nicht vorkommt (69). Solch eine Doppelfärbung ist pathologisch und deutet auf eine onkogene Transformation sowie ein erhöhtes Progressionsrisiko hin. Eine positive Färbung für sowohl p16^{INK4a} im Zytoplasma als auch für Ki-67 im Zellkern einer einzelnen Zelle lässt daher auf eine Persistenz der hrHPV-Infektion schließen, die eine Transformation dieser Zelle bedingt hat (69).

Besonders relevant ist die p16^{INK4a}/Ki-67-Doppelfärbung für die Triage von zytologischen Befunden, da sie hierbei eine höhere diagnostische Spezifität und Sensitivität aufweist als die alleinige Anwendung von p16^{INK4a}. In der PALMS-Studie, einer prospektiven, internationalen Multicenterstudie, konnte gezeigt werden, dass die Kombination von p16^{INK4a} und Ki-67 (Dual-Stain-Test) eine hohe Sensitivität für CIN2/3-Läsionen aufweist, sowohl bei der Primärdiagnostik als auch in der Triage von Befunden (135). Im Vergleich zum HC2-Test, der auf eine HPV-DNA-Nachweismethode setzt, zeigt der Dual-Stain-Test eine signifikant höhere Spezifität für die Detektion von CIN2/3-Läsionen, ohne dabei in bestimmten Befundkategorien an Sensitivität einzubüßen (135).

Zusammengefasst bietet die p16^{INK4a}/Ki-67-Doppelfärbung einen präziseren und robusteren Ansatz zur Identifikation von zervikalen Zellen mit deregulierter

Zellzyklusaktivität als die alleinige p16^{INK4a}-Färbung, wodurch eine bessere Unterscheidung zwischen benignen und prämaligen Veränderungen ermöglicht wird.

Untersuchungsergebnisse der LLETZ-Präparate:

Die Untersuchungsergebnisse der LLETZ-Exzisionspräparate wurden im Rahmen dieser Studie einer gezielten histopathologischen Analyse unterzogen, um die Wirkung der NIPP-Therapie umfassend zu bewerten. Dabei wurden die histologischen Befunde der letzten Probenentnahme mit denen der LLETZ-Präparate verglichen. In drei von vier Fällen (75%) ergab die histopathologische Untersuchung der LLETZ-Exzisionspräparate eine Abnahme des Dysplasiegrades im Vergleich zu den früheren Proben. In einem Fall (25%) wurde hingegen eine höhergradige Dysplasie festgestellt. Trotz der begrenzten Stichprobengröße deutet dies darauf hin, dass durch die präzise kolposkopische Target-Biopsie möglicherweise bereits ein Großteil der dysplastischen Läsionen entfernt wurde. Die Feststellung einer höhergradigen Dysplasie könnte sowohl auf eine Progression des Befundes während des Zeitraums zwischen Probenentnahme und LLETZ zurückzuführen sein, als auch auf das Vorhandensein unterschiedlicher Dysplasiegrade innerhalb größerer dysplastischer Läsionen.

Zusätzlich ergab die histologische Untersuchung der LLETZ-Präparate mittels spezieller Färbetechniken, dass in einigen Präparaten oberflächliche Zellschichten unauffällig waren, während in tieferen Schichten weiterhin dysplastische Läsionen vorlagen. Diese Beobachtung wirft die Frage auf, inwieweit der reguläre PAP-Abstrich in der Lage ist, tiefere Zellschichten zu erfassen. Es besteht die Möglichkeit, dass dysplastische Zellen in tieferen Schichten vorhanden bleiben, während der PAP-Abstrich nur Zellen aus den oberflächlichen Schichten erfasst, was zu falsch-negativen Befunden führen könnte. Wissenschaftliche Überlegungen stützen diese Bedenken. Studien haben gezeigt, dass der PAP-Abstrich vorwiegend Zellen aus den oberflächlichen und intermediären Schichten des Zervixepithels entnimmt, wodurch tiefere dysplastische oder neoplastische Zellen übersehen werden können (136).

Daher sind weitere Studien erforderlich, um die Auswirkungen dieser Veränderungen langfristig beurteilen zu können.

Behandlungszufriedenheit und erfasste Nebenwirkungen im Vergleich:

Im Rahmen der vorliegenden Studie ist ebenfalls die Tolerabilität und Verträglichkeit der NIPP-Behandlung zu diskutieren. Anhand eines Fragebogens wurden die Studienteilnehmerinnen zu ihrem Schmerzempfinden über den Behandlungsverlauf befragt. Der FIBS gilt als qualitativ hochwertige Methode um verschiedene Therapieregime zu vergleichen (111). Verglichen mit den konventionellen Methoden handelt es sich bei der NIPP-Behandlung um eine schmerzarme bis schmerzfreie Behandlungsalternative. Sie konnte ohne Narkose im Untersuchungszimmer durchgeführt werden und ermöglichte so eine unkomplizierte, zeiteffiziente Behandlungsoption für die Patientinnen. 35 Prozent der Patientinnen empfanden während der narkosefreien Behandlung keinerlei Schmerzen. Fast die Hälfte der Patientinnen (43,3%) gaben leichte und 16,7 Prozent mäßige Schmerzen unter der Behandlung an. Binnen der ersten vier Stunden zeigte sich bereits eine deutliche Reduktion der empfundenen Schmerzen, sodass über die Hälfte der Patientinnen (53,3%) keine Schmerzen nach vier Stunden beschrieben. Der Trend setzte sich in den nächsten Tagen fort, sodass bereits nach zwei Tagen 85 Prozent der Patientinnen Schmerzfreiheit beschrieben.

Im Rahmen der Auswertung der Daten zeigte sich, dass sieben Patientinnen bereits vor NIPP-Behandlung über leichte bis teils starke Schmerzen klagten. Bei genauerer Betrachtung stellte sich heraus, dass eine Patientin beispielsweise über enorme Beschwerden bei zeitgleich vorliegender Endometriose klagte (Fall 40). Begleiterkrankungen wurden im Rahmen der Studie nicht regelhaft erfasst, was eventuell eine Erklärung für die vereinzelt Ausreißer in den Angaben darstellt. In die Auswertung wurden alle erhobenen Daten einbezogen, weshalb anzunehmen ist, dass die durch die Behandlung hervorgerufenen Schmerzen wahrscheinlich etwas geringer sind als die Ergebnisse dieser Studie zeigen. Insgesamt stellt die NIPP-Behandlung somit im Vergleich zu den konventionellen Verfahren eine schmerzarme bis schmerzfreie Behandlungsalternative dar.

Ebenfalls Bestandteil dieses Fragebogens war das Erfassen von möglichen beobachteten Nebenwirkungen im Rahmen der NIPP-Behandlung. Etwa die Hälfte (45%) aller Patientinnen gaben im Rahmen der NIPP-Behandlung keine beobachteten

Nebenwirkungen an. Über die Hälfte der Patientinnen (55%) beschrieben subjektiv wahrgenommene leichtgradige Nebenwirkungen (Grad 1). Am häufigsten wurden mit 29,8 Prozent eine kurzfristige Schmierblutung und mit 28,1 Prozent ein veränderter vaginaler Ausfluss beschrieben. Von den Patientinnen konnten mehrere Auffälligkeiten gleichzeitig benannt werden, sodass erwartungsgemäß ein veränderter vaginaler Ausfluss mit einer kurzfristigen Schmierblutung vergesellschaftet war. Positiv zeigte sich, dass es unter NIPP-Behandlung nicht zu Blutungen oder gar Nachblutungen gekommen ist, was eine bekannte Komplikation konventioneller Exzisions- und Destruktionsverfahren darstellt. Deutlich seltener wurden Brennen (12,3%), Schmerzen (7,0%), Ziehen/Stecken (7,0%) oder ein Juckreiz (3,5%) beschrieben. Auch diese Beobachtungen wurden sehr häufig in Kombination genannt. Besonders hervorzuheben ist, dass Schmerzen bei den genannten Nebenwirkungen eine sehr untergeordnete Rolle spielten. Alle unerwünschten Ereignisse klangen spontan und ohne Behandlung ab.

Insgesamt ist die NIPP-Behandlung somit als nebenwirkungsarme und nahezu schmerzfreie Therapie von CIN1/2-Läsionen zu bewerten. Es konnten keine schwerwiegenden Komplikationen beobachtet werden.

Im Gegensatz dazu treten beispielsweise im Rahmen der LLETZ in 9,7 Prozent der Fälle Komplikationen auf. Neben Unterleibsschmerzen, vaginalen Blutungen und vaginalem Ausfluss kommt es in einigen Fällen auch zu schwerwiegenderen Komplikationen wie stärkeren Blutungen oder Darmverletzungen. Bei 2,1 Prozent der Patientinnen kommt es in Folge der chirurgischen Maßnahme zu Verengungen des Gebärmutterhalses, was weitere Vorsorgeuntersuchungen erschwert. Die Beurteilung der T-Zone ist dadurch eingeschränkt und eine zytologische Abstrichentnahme erschwert bis unmöglich. Zudem kann ein verengter Gebärmutterhals dazu führen, dass selbst kleinste diagnostische Maßnahmen für die Patientinnen sehr schmerzhaft sind (137,138).

Des Weiteren stellte die Behandlungszufriedenheit einen wesentlichen Bestandteil des Fragebogens dar. Angelehnt an die Items des FIBS wurden die Patientinnen gebeten die Behandlung zu bewerten. Der FIBS gilt als qualitativ hochwertige Methode um verschiedene Therapieregime zu vergleichen (111). Die NIPP-Behandlung konnte einen Wert von 1,7 erzielen und belegt damit eine hohe Patientenzufriedenheit im Rahmen

dieser Studie. Leider ergaben die Recherchen noch keine zum Vergleich vorliegenden FIBS-Werte der konventionellen Therapieverfahren.

Die NIPP-Behandlung ermöglicht eine hochflexible und individuell auf die Patientinnen zugeschnittene Anwendung. Sie ist insgesamt als nebenwirkungsarme und nahezu schmerzfreie Therapie von CIN 1/2-Läsionen zu bewerten. Im Rahmen der Studie konnten keine schwerwiegenden Komplikationen oder unerwünschte Nebenwirkungen beobachtet werden.

Aktueller Forschungsstand zur Tolerabilität und Verträglichkeit der NIPP-Behandlung:

In wissenschaftlichen Diskussionen nimmt die Frage der Tolerabilität und Verträglichkeit einen zentralen Stellenwert ein. Dies betrifft nicht nur die vorliegende Studie, sondern spiegelt sich auch in einer Vielzahl von Untersuchungen der letzten Jahrzehnte wider, die sich intensiv mit dem mutagenen Potential und der Sicherheit dieser Behandlungsmethode auseinandergesetzt haben. Von besonderem Interesse ist dabei die Frage, ob die reaktiven Spezies, die im Rahmen der NIPP-Behandlung entstehen, mutagene Effekte auf die Zellen ausüben können.

Die Frage nach der möglichen Mutagenität von NIPP ergibt sich vor allem aus der Tatsache, dass die wirksamen Bestandteile der Behandlung reaktive Spezies sind. Diese RONS könnten theoretisch genotoxische Effekte auslösen, da sie durch ihre hohe Reaktivität mit der DNA, Lipiden oder Proteinen interagieren und dadurch möglicherweise Mutationen oder andere DNA-Schäden verursachen könnten (139,140). Diese Bedenken sind wissenschaftlich bedeutsam, da NIPP in der Lage ist, lokal und temporär erhöhte Konzentrationen von RONS in der zellulären Umgebung zu erzeugen, die potenziell die zelluläre Redoxbalance beeinflussen können.

Reaktive Spezies entstehen im Wesentlichen an den Grenzflächen zwischen NIPP und der Umgebungsatmosphäre, wobei Moleküle wie Stickstoff (N_2), Sauerstoff (O_2) und Wasser (H_2O) gespalten, ionisiert und in angeregte Zustände überführt werden. Diese ionisierten Moleküle reagieren dann weiter mit der Umgebungsluft und bilden eine Vielzahl reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies (104). Die biologisch aktiven RONS umfassen eine breite Palette an Molekülen, von kurzlebigen Radikalen wie Singulett-

Sauerstoff und Hydroxyl-Radikalen bis hin zu stabileren Molekülen wie Wasserstoffperoxid. Besonders Sauerstoffradikale zeichnen sich durch ihre schnelle Reaktionsfähigkeit aus und gelten als die entscheidenden Faktoren für die biologische Aktivität von NIPP (141).

In gesunden Zellen wird die durch RONS verursachte potenzielle Schädigung durch komplexe zelluläre Mechanismen kontrolliert (142). Enzymatische und nicht-enzymatische Radikalfänger, wie die Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPX) und Katalase, spielen eine entscheidende Rolle bei der Neutralisierung freier Radikale (143). Diese antioxidativen Enzyme verhindern, dass RONS in physiologischen Konzentrationen Schaden anrichten. Gleichzeitig fungieren RONS in normalen Konzentrationen als wichtige Signalmoleküle in der Zelle, die zelluläre Prozesse wie die Differenzierung und Proliferation regulieren (92). Das zelluläre Redoxsystem befindet sich in einem ständigen Fluss, um die Redoxhomöostase zu gewährleisten und oxidative Schäden zu minimieren.

Die Sicherheit der NIPP-Behandlung beruht unter anderem auf der selektiven Wirkung von RONS, die vor allem auf pathogene Mikroorganismen abzielt, während gesunde Zellen weitgehend verschont bleiben (99). Studien belegen, dass NIPP durch die gezielte Erzeugung von RONS in der Lage ist, Mikroben effektiv zu inaktivieren, ohne dabei signifikante Schäden an der DNA gesunder Zellen oder an deren Funktion zu verursachen. Ein weiterer sicherheitsrelevanter Aspekt ist die kurze Lebensdauer der durch NIPP erzeugten reaktiven Spezies, was bedeutet, dass ihre Wirkung auf das Zielgewebe lokal und zeitlich begrenzt ist.

Jedoch ist bekannt, dass dauerhaft erhöhte RONS-Konzentrationen potenziell gesundheitsschädlich sein können, da chronischer oxidativer Stress zu Zellschäden führen kann. In solchen Fällen könnten RONS in der Lage sein, mit DNA, Proteinen oder Lipiden zu reagieren und so oxidative Schäden hervorzurufen, die unter Umständen Apoptose oder mutagene Veränderungen begünstigen. Dies tritt jedoch nur auf, wenn das zelluläre Entgiftungssystem überlastet ist, was unter normalen klinischen Bedingungen nicht der Fall ist.

Die Ergebnisse zahlreicher Studien zur NIPP-Behandlung bestätigen deren hohe Verträglichkeit und Sicherheit. So zeigte beispielsweise eine Studie von Isbary et al., dass

bei 291 NIPP-Behandlungen an 38 Wunden neben einer statistisch signifikanten Reduktion der Bakterienlast keinerlei unerwünschte Nebenwirkungen auftraten (144). Ähnliche Ergebnisse fanden Lademann und Ulrich, die nachwiesen, dass keine Grenzwerte für gesundheitsschädliche Expositionen, wie beispielsweise für UV-Strahlung, überschritten wurden (145). Diese Studien unterstreichen, dass NIPP eine wirksame, sichere und nebenwirkungsarme medizinische Behandlungsoption darstellt.

Zusammenfassend zeigen zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen, dass die NIPP-Behandlung keine negativen Auswirkungen auf die DNA-Integrität und die Funktion gesunder Zellen hat. Verschiedene experimentelle Studien und etablierte Verfahren zur Untersuchung der Mutagenität haben keinen Hinweis auf die Induktion von Mutationen gefunden. Langzeitbeobachtungen und in-vivo-Tests, die über einen Zeitraum von bis zu sieben Jahren durchgeführt wurden, stützen diese Erkenntnisse und bestätigen die Sicherheit der NIPP-Behandlung auch bei langfristiger Anwendung.

Aktueller Forschungsstand: neben NIPP erfolgte die Erforschung weiterer Therapieansätze:

In den letzten Jahrzehnten wurde neben NIPP ebenfalls intensiv an weiteren Therapieoptionen für CIN und HPV-Infektionen geforscht. Insbesondere die Entwicklung und Untersuchung von topischen Therapien zur Selbstbehandlung stehen im Mittelpunkt der aktuellen Forschung. Hierbei wurden insbesondere Immunmodulatoren, antiproliferative Medikamente, antivirale Mittel, Hormone sowie pflanzliche Nahrungsergänzungsmittel auf ihre Effektivität hin untersucht (146,147).

Unter den Immunmodulatoren hat sich Imiquimod als einer der vielversprechendsten Immunmodulatoren herausgestellt. Als Agonist des Toll-like-7-Rezeptors (TLR7) stimuliert Imiquimod das Immunsystem, indem es die Anzahl der Immunzellen im Epithel erhöht und die Produktion von Zytokinen wie Interferon α , Interleukin 6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor α (TNF- α) anregt. Diese Aktivierung führt zu einer verstärkten Immunantwort gegen HPV-infizierte Zellen, was Imiquimod bei der Behandlung von Feigwarzen und vulvären sowie vaginalen Dysplasien effektiv macht (148–151). Typischerweise wird Imiquimod als topische Creme in Konzentrationen von ein bis fünf

Prozent verwendet und drei- bis siebenmal pro Woche über acht bis 16 Wochen aufgetragen. Nebenwirkungen wie lokale Reaktionen (Erytheme, Pruritus, Exkorationen) und systemische Symptome (grippeähnliche Beschwerden) wurden in bis zu 90 Prozent der Fälle beobachtet, sind jedoch meist leicht bis mittelschwer (148,152,153). Studien haben die Wirksamkeit von Imiquimod bei der Behandlung von HPV-induzierten intraepithelialen Neoplasien der Vulva und CIN2/3 gezeigt. Beispielsweise berichtete eine Studie von Grimm et al. über eine 16-wöchige selbst verabreichte, dosissteigernde intravaginale Imiquimod-Behandlung bei CIN2/3-Patientinnen, wobei eine signifikante histologische Regression (73% gegenüber 39%, $p < 0,05$) sowie HPV-Clearance (60% gegenüber 14%, $p < 0,05$) beobachtet wurde (148). Die kürzlich veröffentlichte TOPIC-3-Studie, die Imiquimod als Primärtherapie für CIN2/3 untersuchte, erzielte bemerkenswerte Ergebnisse. Die Studie zeigte, dass nach einer erfolgreichen Behandlung mit Imiquimod die Clearance von hrHPV vergleichbar mit derjenigen nach einer LLETZ war. Zudem trat ein Wiederauftreten der Krankheit nach sechs Monaten nur bei vier Prozent der Frauen auf. In der Imiquimod-Gruppe brachen jedoch 13 Frauen (21%) die Behandlung aufgrund von Nebenwirkungen ab. Insgesamt war die topische Imiquimod-Behandlung bei 60 Prozent der Patientinnen erfolgreich (154). Weitere Studien befassen sich derzeit mit einer Kombinationstherapie aus Imiquimod und HPV-Impfstoffen. Als Metabolit von Vitamin A spielen Retinoide, zu denen Transretinsäure gehört, eine Schlüsselrolle bei Schleimhautimmunreaktionen. Sie modulieren die Zellproliferation und Differenzierung, wodurch sie präkanzeröse Zellen eliminieren. Eine Metaanalyse von fünf Studien klassifizierte Transretinsäure jedoch als unwirksam bei der Behandlung von CIN (155). Interferone sind Zytokine, die durch Virusinfektionen oder andere Immunprozesse produziert werden. Sie werden derzeit zur Behandlung von Virusinfektionen und Karzinomen eingesetzt. Bei der Behandlung von CIN konnte jedoch bisher keine signifikante Wirkung nachgewiesen werden (156). GM-CSF (Granulozyten-Monozyten-Kolonien-stimulierende Faktor) ist ein Zytokin, das die Anzahl der Antigen-präsentierenden Zellen erhöht. In einer Phase-1b-Studie mit 15 Patientinnen wurde eine signifikante Erhöhung der Antigen-präsentierenden Zellen sowie eine zytotoxische T-Lymphozyten-Infiltration in Gebärmutterhalsbiopsien beobachtet (157).

In der Gruppe der antiproliferativen Medikamente wurde vor allem 5-Fluorouracil (5-FU) untersucht. 5-FU ist ein Antimetabolit, der die Synthese von Thymidin blockiert und somit die DNA-Replikation verhindert. Es wird seit Jahrzehnten topisch zur Behandlung von HPV-bedingten Erkrankungen wie Genitalwarzen, vulvären und vaginalen Dysplasien eingesetzt (158). Aufgrund seines ausgeprägten Nebenwirkungsprofils, wie Brennen, Erytheme und chronische Ulzerationen, ist seine Nutzung jedoch eingeschränkt (159). Aktuelle Studien untersuchen die Kombination von topischem 5-FU mit Imiquimod zur Verbesserung der Verträglichkeit und Effektivität (NCT03196180).

Aufgrund dessen, dass CIN eine starke Assoziation zu HPV aufweisen, wurde ebenfalls intensiv an antiviralen Mitteln geforscht. Cidofovir, ein azyklisches Nukleosidphosphat-Derivat, zeigt eine breite Wirkung gegen DNA-Viren. Bisher findet Cidofovir Anwendung in der Behandlung von beispielsweise Herpes- oder Adenoviren (160). Eine Studie von Van Pachterbeke et al. konnte eine signifikante Regression von CIN2/3 bei 61 Prozent der mit Cidofovir behandelten Patientinnen im Vergleich zu 20 Prozent bei Placebo zeigen. Insgesamt ist daher Cidofovir aus der Gruppe der antiviralen Medikamente als das vielversprechendste Mittel zu bewerten (147). Lopinavir und Ritonavir finden als kombinierter oraler HIV-Proteasehemmer Anwendung. Eine explorative Studie von Hampson et al. zeigte einen 82-prozentigen Rückgang der zytologischen Ergebnisse von CIN2/3 zu CIN1 oder einer histologischen Komplettremission, wobei die Therapie bis auf leichte Nebenwirkungen gut vertragen wurde (161). Vidarabin, ein DNA-Polymerasehemmer, wurde bisher nur in Kombination mit anderen topischen Behandlungen eingesetzt (162). Terameprocol, ein Transkriptionshemmer, stört selektiv die viralen HPV-Gene E6 und E7. Die Forschung befindet sich jedoch noch in einem frühen Stadium (Phase-1-Studie) (163).

Auch die Wirkung bestimmter Hormone auf CIN wurde untersucht. So konnte gezeigt werden, dass vaginales Progesteron die Präsenz von Langerhans-Zellen in der Vaginalschleimhaut bei CIN1-Läsionen erhöht. Weitere Studien konnten nachweisen, dass die Konzentration an Langerhans-Zellen für die lokale Immunantwort auf HPV entscheidend ist (164). Dehydroepiandrosteron (DHEA) ist ein Nebennierensteroid mit immunmodulierenden und tumorhemmenden Funktionen. Eine Studie, die eine Kohorte aus 12 Patientinnen mit CIN1-Läsionen untersuchte, zeigte erste vielversprechende Ergebnisse (165).

Abschließend wurde bisher ebenfalls an pflanzlichen Nahrungsergänzungsmitteln geforscht. Untersuchungen zur Diindolylmethan-Therapie bei Patientinnen mit CIN1/2 sind noch nicht abschließend bewertet (166). Beta-Gluten erwies sich als nicht wirksam bei CIN2/3 (167). Es gibt nur einen einzigen Fallbericht zur Verwendung von *Sanquinara canadensis* (Blutwurz) (168). Studien mit Grüntee-Extrakt, *Azadirachta indica* (Neem), Rinderkolostrum, Kurkuma und Glucyrrhizinsäure (Süßholzwurzel) zeigen mögliche Wirksamkeit und Verträglichkeit bei der Behandlung von HPV-Infektionen oder CIN1 (169–172).

Die klinischen Studien zu topischen Therapien weisen mehrere methodische Schwächen auf, darunter eine niedrige Qualität, geringe Stichprobengrößen sowie variierende Behandlungsschemata und Einschlusskriterien, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert. Obwohl randomisierte Studien zu immunmodulatorischen (Imiquimod), antiproliferativen (5-FU) und antiviralen (Cidofovir) Therapien vielversprechende Ergebnisse gezeigt haben, besteht weiterer Forschungsbedarf. Demnach existiert derzeit keine topische Behandlungsalternative mit ausreichender Evidenz aus klinischen Studien, um als primäre Therapie für HPV-Infektionen oder CIN empfohlen zu werden.

Was macht die NIPP-Behandlung nun zu etwas Besonderem?

Die NIPP-Behandlung stellt eine revolutionäre Therapieform dar, die sich durch ihre multifunktionalen Effekte und innovativen Anwendungsmöglichkeiten von traditionellen Behandlungsansätzen abhebt. In den letzten Jahren hat sich die Plasmamedizin, besonders in der Dermatologie, als vielversprechendes Forschungsfeld etabliert (173). Ihre Einzigartigkeit liegt in der Fähigkeit, mehrere therapeutische Effekte gleichzeitig zu erzielen, was durch das komplexe Zusammenspiel verschiedenster plasmagenerierter Bestandteile ermöglicht wird. Insbesondere die in der Therapie freigesetzten RONS tragen erheblich zu den biologischen Effekten bei, die im Rahmen der NIPP-Behandlung induziert werden.

Einer der herausragenden Vorteile der NIPP-Behandlung ist ihre starke antimikrobielle Wirkung (99). NIPP inaktiviert nicht nur grampositive und gramnegative Bakterien, sondern wirkt auch gegen multiresistente Erreger wie MRSA und MRGN (174).

Besonders bemerkenswert ist die Effektivität von NIPP gegenüber extrem widerstandsfähigen Mikroorganismen wie *Deinococcus radiodurans* sowie humanpathogenen Keimen wie Listerien, Salmonellen und EHEC, die bereits nach kurzer Expositionszeit abgetötet werden können (175). Der Wirkmechanismus von NIPP beruht auf der Erzeugung von RONS, die aufgrund ihres hohen Redoxpotentials Zellmembranen, Proteine und Nukleinsäuren angreifen (176). Diese reaktiven Spezies, darunter atomarer Sauerstoff, Ozon und Hydroxylradikale, verursachen irreversible Zellschäden, die schließlich zum Zelltod führen. Eine weitere Besonderheit von NIPP liegt in der Selektivität gegenüber prokaryotischen Zellen, während menschliche Zellen weitgehend geschont werden, da eukaryotische Zellen besser vor oxidativem Stress geschützt sind (176). Außerdem weisen prokaryotische Zellen ein ungünstiges Oberflächen-Volumen-Verhältnis auf, weshalb bereits eine geringere NIPP-Dosis ausreicht um zu einer Zellschädigung zu führen (176). Studien bestätigen die Wirksamkeit von NIPP bei der Abtötung von *Escherichia coli*, MRSA und *Pseudomonas aeruginosa* nach nur zweiminütiger Behandlung, was einen signifikanten Vorteil gegenüber Antibiotika darstellt, da keine Resistenzen entstehen (177). Neben der antibakteriellen Wirkung zeigt NIPP auch starke antifungale und antivirale Effekte. In klinischen Studien konnte NIPP Pilzinfektionen, wie Nagelpilz (Onychomykose), signifikant reduzieren, während bei Viruserkrankungen wie Herpes Zoster die tägliche NIPP-Behandlung die Heilung der Haut beschleunigte, ohne Schmerzen zu verursachen (178,179).

Neben der antimikrobiellen Wirkung fördert NIPP die Wundheilung auf verschiedenen Ebenen. In Studien wurde gezeigt, dass NIPP die bakterielle Belastung von chronischen und akuten Wunden reduziert und den Heilungsprozess reaktiviert. Bei rund 30 Prozent der behandelten Patienten wurde eine signifikante Reduktion der Wundflora festgestellt (144). NIPP wirkt, indem es Entzündungen reduziert und Wachstumsfaktoren wie TGF- β 1 und TGF- β 2 aktiviert, die die Geweberegeneration fördern. Besonders bemerkenswert ist die durch NIPP stimulierte Freisetzung von Stickstoffmonoxid, welches die Zellproliferation, Angiogenese und Kollagensynthese fördert und somit die Heilung chronischer Wunden weiter unterstützt (180).

Zusätzlich stimuliert NIPP die Bildung neuer Blutgefäße, ein Prozess, der für die Wundheilung entscheidend ist. In vitro-Studien belegen, dass NIPP die Freisetzung

angiogenese-fördernder Wachstumsfaktoren wie VEGF und FGF-2 anregt, was zu einer verbesserten Durchblutung des Gewebes führt. Dies verbessert die lokale Nährstoffversorgung und erhöht die Sauerstoffsättigung, was die Heilung chronischer Wunden erheblich beschleunigt. Durch die Förderung der Zellproliferation von Fibroblasten und Endothelzellen trägt NIPP zur Geweberegeneration und zur Wiederherstellung der Hautbarriere bei (92,181).

Was NIPP von traditionellen Therapien unterscheidet, ist seine Fähigkeit, mehrere therapeutische Effekte gleichzeitig zu erzielen. Die Behandlung mit NIPP stellt eine revolutionäre Therapieform dar, die sich durch ihre multifunktionalen Effekte und innovativen Anwendungsmöglichkeiten auszeichnet. Im Gegensatz zu herkömmlichen Behandlungsansätzen entfaltet NIPP eine synergistische Wirkung, bei der verschiedene plasmagenerierte Komponenten gleichzeitig auf das Gewebe einwirken (182). Diese Synergie ermöglicht es, eine Vielzahl biologischer Effekte in einem einzigen Behandlungsschritt zu erzielen, was die NIPP-Behandlung zu einer effektiven Methode zur Förderung des Zellwachstums, zur Hemmung von Tumorwachstum und zur Unterstützung der Wundheilung macht.

Die Wirkweise von NIPP basiert auf der Erzeugung eines Plasmas, in dem hochreaktive chemische Spezies entstehen. Diese Spezies interagieren mit der Zellumgebung und beeinflussen verschiedene biologische Prozesse wie das Zellwachstum, den Stoffwechsel, den Zellzyklus und die Apoptose. Ein zentraler Aspekt der NIPP-Behandlung ist die Veränderung der flüssigen Zellumgebung, die durch die plasmagenerierten RONS hervorgerufen wird. Diese reaktiven Spezies erzeugen oxidative Veränderungen, die eine Vielzahl von Signalwegen aktivieren und zelluläre Prozesse steuern.

Die Fähigkeit von NIPP, direkt auf die Zellumgebung einzuwirken und eine Vielzahl von biologischen Effekten auszulösen, erweitert die therapeutischen Einsatzmöglichkeiten erheblich. Während NIPP derzeit vor allem in der Dermatologie und Wundbehandlung eingesetzt wird, zeigt sich ein wachsendes Interesse an seiner Anwendung in anderen medizinischen Bereichen, wie der Gynäkologie. Wissenschaftliche Studien belegen, dass die NIPP-Behandlung tiefgreifende Auswirkungen auf zelluläre Prozesse hat, was ihre potenziellen Einsatzmöglichkeiten kontinuierlich erweitert.

NIPP in besonderem Interesse für onkologische Therapien:

In den letzten Jahren hat der Einsatz von NIPP in der Onkologie zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diese innovative Therapieoption bietet vielversprechende Ansätze in der Behandlung diverser onkologischer Erkrankungen und ist daher Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung. Dies hat zu einem bemerkenswerten Anstieg an Publikationen geführt, die sich mit dem antionkogenen Potenzial von NIPP beschäftigen. Das Interesse an NIPP resultiert aus seiner potenziellen Fähigkeit, gezielt Tumorzellen zu beeinflussen, ohne dabei gesundes Gewebe zu beschädigen (99). Trotz der bisherigen Erfolge ist die NIPP-Therapie bei Weitem noch nicht an ihre Grenzen gestoßen.

Interessanterweise ist die erzeugte Dosis reaktiver Spezies während der NIPP-Behandlung entscheidend für die unterschiedlichen biologischen Effekte. Während niedrige Plasmadosen und kurze Behandlungszeiten zellstimulierende Effekte wie eine verstärkte Zellproliferation auslösen können, führen höhere Plasmadosen und längere Behandlungszeiten zu Apoptose, Nekrose und Zellzyklusarrest (183). Dieser dosisabhängige Effekt ist auf die unterschiedliche Reaktion der Zellen auf die Konzentration der durch NIPP erzeugten RONS zurückzuführen. Hohe RONS-Konzentrationen führen in Tumorzellen zu Zellschäden, während niedrige RONS-Konzentrationen Zellwachstum stimulieren (183).

Die Selektivität von NIPP gegenüber Tumorzellen im Vergleich zu normalen, nicht entarteten Zellen hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. In-vitro-Experimente deuten darauf hin, dass Krebszellen möglicherweise sensibler auf NIPP-Behandlungen reagieren als ihre nicht-malignen Gegenstücke (184,185). Diese Beobachtung könnte durch die Hypothese unterstützt werden, dass Tumorzellen stärker auf Redoxstress reagieren, was ihnen eine erhöhte Sensibilität gegenüber den Effekten von NIPP verleiht (99). Diese Eigenschaft der NIPP-Technologie ist von besonderem Interesse in der Onkologie, da sie eine gezielte Zerstörung von Tumorzellen ermöglicht und gleichzeitig das umliegende gesunde Gewebe schont.

Ein möglicher Grund für die höhere Empfindlichkeit von malignen Zellen könnte in deren Energiegewinnung durch anaerobe Glykolyse liegen, die zu erhöhten Konzentrationen reaktiver Spezies führt (186). Darüber hinaus scheinen die unterschiedlichen Zellteilungsraten von malignen und nicht-malignen Zellen einen weiteren Einfluss auf

die Sensibilität gegenüber NIPP zu haben (187). Während der S- und M-Phasen des Zellzyklus sind die Zellen besonders anfällig für eine NIPP-Behandlung, was dazu führt, dass zum Zeitpunkt der Behandlung eine größere Anzahl von Tumorzellen in diesen vulnerablen Phasen ist (188). ROS werden über Nanoporen in die Zellen aufgenommen, und da der basale ROS-Spiegel in Tumorzellen höher ist als in normalen Zellen, wird der kritische Schwellenwert, der zur Apoptose führt, schneller überschritten (187,189). Es ist jedoch zu beachten, dass dies nicht bedeutet, dass nicht-maligne Zellen grundsätzlich weniger sensibel gegenüber NIPP sind; vielmehr deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Zellteilungsrate einen entscheidenden Einfluss auf die Sensibilität hat (188). Trotz dieser vielversprechenden Erkenntnisse bleibt die Datenlage begrenzt, da viele Studien unterschiedliche Zelltypen für den Vergleich von malignen und benignen Zellen verwendet haben.

Allen bisherigen Studien ist jedoch gemein, dass selbst kurze NIPP-Behandlungen ausreichen, um Tumorzellen abzutöten, während normale Zellen weitgehend unbeeinflusst bleiben (99). Diese selektive Wirkung von NIPP ist ein entscheidender Vorteil, da sie das gesunde Gewebe schont und gleichzeitig eine effektive Zerstörung von Tumorzellen ermöglicht.

Neben den direkten zellulären Effekten besitzt NIPP auch immunmodulatorische Eigenschaften, die in der onkologischen Therapie von großem Interesse sind. Erste Studien deuten darauf hin, dass NIPP die Freisetzung immunologisch aktiver Faktoren wie Zytokine, Interleukine und Wachstumsfaktoren beeinflussen kann. Diese Modulation des Immunsystems kann zu einer Aktivierung zytotoxischer T-Zellen und einer verstärkten Infiltration dieser Zellen in das Tumorgewebe führen (190). Dies könnte nicht nur den Zelltod der Tumorzellen beschleunigen, sondern auch eine langfristige Immunantwort gegen den Tumor auslösen, was eine anhaltende Antitumor-Immunität zur Folge haben könnte (191). Diese immunmodulatorischen Effekte machen NIPP zu einem potenziell wertvollen Instrument in der Krebstherapie (191).

Die Forschungsgruppe um Eva Stoffels (Eindhoven, Niederlande) lieferte einige der ersten Daten zu den biologischen Effekten der NIPP-Behandlung auf vitale Tumorzellen. Ihre Studien demonstrierten, dass die Exposition gegenüber NIPP zu einer dosisabhängigen Reduktion der Lebensfähigkeit von Tumorzellen führt (192,193).

Interessanterweise traten einige zelluläre Effekte erst deutlich nach der Behandlung auf, wobei apoptotische Veränderungen an der Zellmembran und der Zellmorphologie erst nach 24 Stunden beobachtet wurden (194). Zudem wurde eine Fragmentierung des Erbguts festgestellt, die durch apoptotische Kaskaden induziert wurde (194). Ein inhibitorischer Einfluss von NIPP auf die Zellproliferation wurde für verschiedene Tumorentitäten, insbesondere bei Gehirn- und Lungenkarzinomen, dokumentiert (195). Längere Behandlungszeiten führten zu einer stärkeren Wachstumsinhibition, was auch in Untersuchungen an Ovarial-, Mamma- und Pankreaskarzinom-Zellen bestätigt werden konnte (196–198).

NIPP-Behandlung bei weiteren Vorstufen von Tumorerkrankungen:

Zusätzlich zu den umfassend dokumentierten antineoplastischen Effekten auf diverse Tumorarten hat NIPP vielversprechende transmukosale antineoplastische Eigenschaften gegenüber präneoplastischen Zellen gezeigt, ohne die Integrität der darunter liegenden Gewebestrukturen zu beeinträchtigen (196,199). In einer monozentrischen Dosisfindungsstudie wurde demonstriert, dass das elektrochirurgische Argonplasma-Gerät VIO3/APC3 (Erbe Elektromedizin, Tübingen, Deutschland) eine effektive und gleichzeitig gewebeschonende In-vivo-Anwendung bei Patientinnen mit CIN1/2 ermöglicht (200,201).

Die Anwendungsmöglichkeiten der NIPP-Behandlung könnten jedoch nicht nur auf CIN beschränkt sein, sondern auch in anderen Schleimhautbereichen wie dem Magen-Darm-Trakt, der Lunge, der Vagina und dem Kehlkopf von Interesse sein. Im Magen-Darm-Trakt beispielsweise könnte die NIPP-Behandlung zur Bekämpfung präkanzeröser Läsionen und früher Stadien von Adenokarzinomen eingesetzt werden. Ähnliche potenzielle Anwendungen wären für bronchialen Neoplasien in der Lunge denkbar, wo NIPP möglicherweise die Effektivität bestehender Therapien verbessern könnte.

Darüber hinaus bietet die NIPP-Technologie für Vagina und Kehlkopf, wo herkömmliche Therapiemethoden oft mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden sind, eine vielversprechende Alternative.

NIPP in Kombination mit etablierten Verfahren:

Die NIPP-Behandlung wird zunehmend als ergänzende Therapie zu etablierten Verfahren untersucht. Insbesondere in der Dermatologie, beispielsweise im Rahmen der Melanomforschung, wird intensiv geforscht, ob die NIPP-Therapie synergetische Effekte mit bestehenden Therapiemethoden erzielen kann.

Eine vielversprechende Option ist die Kombination von NIPP mit Zytostatika. Studien haben gezeigt, dass die NIPP-Behandlung die Sensitivität von chemoresistenten Krebszellen gegenüber bestimmten Medikamenten erhöht (202). Dabei wurden verschiedene Ansätze untersucht, sowohl NIPP als Monotherapie als auch in Kombination mit anderen Behandlungen (173). Eine vorausgehende NIPP-Behandlung könnte zu einer erneuten Sensibilisierung bereits resistenter Tumorzellen führen und somit die Wirksamkeit der anschließenden Chemotherapie verbessern. Darüber hinaus könnte die Kombination von NIPP mit einer lokalen Gabe von Chemotherapeutika eine Dosisreduktion der benötigten Zytostatika ermöglichen, was die systemischen Nebenwirkungen der Chemotherapie verringern könnte. Beispielsweise haben Ishaq et al. in ihrer Studie gezeigt, dass die NIPP-Behandlung das Ansprechen von chemoresistenten kolorektalen Karzinomen auf Zytostatika verbessert (202). Ihre Daten deuten darauf hin, dass die intraoperative Anwendung von NIPP in Kombination mit lokaler Chemotherapie deutlich wirksamer ist als die Einzeltherapien. Diese Kombinationstherapie könnte besonders nützlich sein, um chemoresistente Tumoren effektiv zu inaktivieren.

In vitro-Studien haben zudem gezeigt, dass die Wirkung von NIPP auf die metabolische Aktivität von Melanomzelllinien durch die zusätzliche Gabe von Natriumazid signifikant verstärkt werden kann, während Natriumazid allein in den verwendeten Dosen keinen negativen Effekt auf die metabolische Aktivität hatte (203). Darüber hinaus konnte die Kombination von NIPP mit Gemcitabin die Wirkung der jeweiligen Monotherapie im Mausmodell signifikant steigern (204). Diese Ergebnisse unterstreichen das Potenzial von NIPP, die Effektivität bestehender Therapiemethoden zu erhöhen und bieten vielversprechende Perspektiven für die zukünftige Forschung in der Onkologie.

6 Zusammenfassung

Das invasive Zervixkarzinom (CC) stellt trotz bestehender Vorsorgeprogramme weltweit die vierthäufigste Krebserkrankung und -todesursache von Frauen dar. Im Jahr 2022 ereigneten sich 94 Prozent der Todesfälle durch CC in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen (LMICs), was die globale Ungleichheit im Gesundheitswesen verdeutlicht. Aufgrund dieser Situation wurde 2018 durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO) ein weltweiter Aufruf zum Handeln initiiert, um Strategien gegen das CC zu entwickeln.

Derzeit etablierte Behandlungsmöglichkeiten bei zervikalen intraepithelialen Neoplasien (CIN) bestehen aus ablativen und destruktiven Verfahren, welche anästhesiologische Mitbetreuung erfordern und mit Komplikationen wie Schmerzen und Blutungen verbunden sind. Insbesondere bei jungen Frauen können solche Therapien das Risiko von Frühgeburten und Zervixinsuffizienz erhöhen.

In den letzten Jahren konnten Studien vielfältige Wirkungen von nicht-invasivem physikalischen Plasma (NIPP) detektieren, welche vor allem auf seine komplexe Zusammensetzung und die enthaltenen reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies (RONS) zurückzuführen sind. Zunehmend rückt das antionkogene Potenzial der NIPP-Behandlung in das Zentrum der Forschung. Mehrere Studien haben gezeigt, dass NIPP zelluläre Prozesse wie Zellwachstum, Zellstoffwechsel, Zellzyklus und die Induktion der Apoptose beeinflusst.

Die vorliegende Doktorarbeit befasst sich mit dem therapeutischen Erfolg sowie der klinischen Anwendbarkeit und Sicherheit von NIPP bei leicht- und mittelgradigen CIN (CIN1/2). Die NIPP-Behandlung stellt ein gewebeschonendes Verfahren dar, welches ohne Anästhesie durchgeführt werden kann, und bietet damit eine vielversprechende Alternative zur Prävention des CCs. Im Gegensatz zu konventionellen Verfahren, wie der Schlingenkonisation (Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ)), gewährleistet NIPP den Erhalt von Gewebe.

Eine wesentliche Stärke der vorliegenden Studie liegt in der Verwendung von kolposkopisch gesteuerter Biopsien zur Bestimmung der histologischen Remissionsraten, was eine hohe diagnostische Präzision ermöglicht. Allerdings stellt das nicht-

randomisierte Studiendesign eine Limitation dar. Die NIPP-Behandlung erwies sich als äußerst flexibel und individuell an die Größe und Form der Läsion anpassbar. Die Ergebnisse zeigen, dass die NIPP-Behandlung zu einer signifikanten histologischen und zytologischen Remission von CIN1/2-Läsionen beiträgt und zudem eine deutliche Reduktion der Infektionen mit Humanen Papillomaviren der Hochrisikogruppe (hrHPV) führt. Es wurden keine schwerwiegenden Nebenwirkungen beobachtet, was sich in einer hohen Behandlungszufriedenheit widerspiegelt.

Die Fokussierung auf CIN1/2-Läsionen war notwendig, um die grundlegende Wirksamkeit der NIPP-Behandlung im Vergleich zur Spontanremission zu evaluieren. Es bleibt offen, ob diese innovative Therapieform auch bei schwergradigen Neoplasien (CIN3) vergleichbare Ergebnisse erzielen kann. Zukünftige Studien sollten sich daher auf die Untersuchung der Wirksamkeit der NIPP-Therapie bei CIN3-Läsionen fokussieren.

7 Summary

Invasive cervical cancer (CC) is the fourth leading type of cancer and cause of death in women worldwide, despite existing screening programs. In 2022, 94 percent of deaths caused by CC still occurred in low-and middle-income countries (LMICs), highlighting the global inequality in healthcare. To conquer this problem the World Health Organization (WHO) started a global initiative in 2018 in order to develop strategies for the prevention of CC.

Current treatment options for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) include ablative and destructive procedures, which not only require anesthesia but come with complications like pain and bleeding. In young women in particular, these treatments are known to increase the risk of premature birth and cervical insufficiency.

In recent years, multiple studies have detected the various effects of non-invasive physical plasma (NIPP), which are mainly attributed to its complex composition and the containing reactive oxygen and nitrogen species (RONS). Besides the effective inactivation of microorganisms, the stimulation of cell proliferation and microcirculation, as well as the regeneration of damaged tissue, it is the antioncogenic potential of NIPP treatment that is becoming the main focus of research. Several studies have shown that NIPP influences cellular processes such as cell growth, cell metabolism, cell cycle and the induction of apoptosis.

This doctoral thesis deals with the therapeutic success, clinical applicability and safety of NIPP in CIN1/2 lesions. NIPP treatment is a tissue-sparing procedure that can be performed without anaesthesia and thus offers a promising alternative in the prevention of CC. In contrast to conventional procedures such as Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ), it guarantees the preservation of tissue.

A major strength of the presented study is the use of colposcopy-guided biopsies to determine histologic remission rates, which allows high diagnostic precision. However, the non-randomized study design is a major limitation. Nevertheless, has the NIPP treatment shown to be well individually adjustable to size and shape of a lesion. The results show that NIPP treatment contributes to a significant histological and cytological

remission, as well as a reduction of high-risk human papilloma virus infection. There were no serious side effects observed, which is reflected in the high treatment satisfaction.

Another limitation of the study is that only CIN1/2 lesions were included, although it is typically CIN3 lesions that are the main target of treatment. Nevertheless, it remains to be seen whether this innovative form of treatment is able to achieve comparable results in treating CIN3 lesions. To conclude studies to come should concentrate on investigating the efficacy of NIPP therapy in CIN3 lesions.

8 Literaturverzeichnis

1. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, u. a. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Glob Health*. 4. Dezember 2019;8(2):e191–203.
2. Zentrum für Krebsregisterdaten: RKI: Krebs - Gebärmutterhalskrebs [Internet]. [zitiert 4. September 2024]. Verfügbar unter: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Gebaermutterhalskrebs/gebaermutterhalskrebs_node.html
3. Eggersmann TK, Gallwas J, Mahner S, Dannecker C. Impfung gegen humane Papillomviren. Wirksamkeit und Nebenwirkungen. *Gynäkol*. September 2017;50(9):682–6.
4. McCredie MRE, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, u. a. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol*. Mai 2008;9(5):425–34.
5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, u. a. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. September 1999;189(1):12–9.
6. Insinga RP, Glass AG, Rush BB. Diagnoses and outcomes in cervical cancer screening: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol*. Juli 2004;191(1):105–13.
7. Peto J, Gilham C, Deacon J, Taylor C, Evans C, Binns W, u. a. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer*. 31. August 2004;91(5):942–53.
8. S3-Leitlinie Prävention des Zervixkarzinoms. 2020.
9. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 17 June 2019 [Internet]. [zitiert 4. September 2024]. Verfügbar unter: <https://hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
10. IGCS [Internet]. [zitiert 1. September 2024]. IGCS: Cervical Cancer. Verfügbar unter: <https://igcs.org/cervical/>
11. World Health Organization: Cervical cancer [Internet]. [zitiert 4. September 2024]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>
12. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. November 2018;68(6):394–424.

13. Seifert U, Klug SJ. [Early detection of cervical cancer in Germany: evidence and implementation]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. März 2014;57(3):294–301.
14. Krebs - Gebärmutterhalskrebs [Internet]. [zitiert 1. Oktober 2024]. Verfügbar unter:
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Gebaermutterhalskrebs/gebaermutterhalskrebs_node.html
15. Marquardt K, Büttner HH, Broschewitz U, Barten M, Schneider V. Persistent carcinoma in cervical cancer screening: non-participation is the most significant cause. Acta Cytol. 2011;55(5):433–7.
16. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. BMJ. 28. Juli 2009;339:b2968.
17. Farrokh A, Maass N. Das Zervixkarzinom und seine Vorstufen. Gynäkol. Mai 2016;49(5):306–10.
18. Schneider A, Von Knebel-Doerberitz M, Muth C, Kühn W, Von Keyserling H, Glastetter E. Früherkennung des Zervixkarzinoms. Onkol. Februar 2008;14(2):147–55.
19. Küppers V. Klinisches Bild, Prognose und Verlauf bei Infektionen mit HPV. Gynäkol. September 2017;50(9):665–74.
20. Cavalari M, Beyer D. Humane Papillomaviren: Karzinogenese, Nachweismethoden, Impfstrategien. Gynäkol. Mai 2016;49(5):311–8.
21. Richtlinie für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme und Krebsfrüherkennungs-Richtlinie: Programm zur Früherkennung von Zervixkarzinomen - Gemeinsamer Bundesausschuss [Internet]. [zitiert 1. Oktober 2024]. Verfügbar unter: <https://www.g-ba.de/beschluesse/3597/>
22. Becker S, Henes M. Diagnostik und Primärtherapie des Zervixkarzinoms. Gynäkol. Mai 2012;45(5):391–405.
23. Kühn W. [Colposcopy in the diagnosis of early cervical cancer]. Pathol. November 2011;32(6):497–504.
24. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, u. a. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 26. Juni 2012;109(26):10516–21.
25. Schreckenberger C, Kaufmann AM, Schneider A. Primäre Prävention des Zervixkarzinoms: HPV-Impfung und deren molekularbiologische Grundlagen. Onkol. September 2006;12(9):836–44.

26. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, u. a. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 1. März 2015;136(5):E359-386.
27. zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res*. Februar 1976;36(2 pt 2):794.
28. Iftner T. Humane Papillomaviren und Zervixkarzinom: Vom Labor zum Patienten – die Geschichte der HPV-Impfung. *Onkol*. Oktober 2016;22(10):718–24.
29. Gissmann L, Diehl V, Schultz-Coulon HJ, zur Hausen H. Molecular cloning and characterization of human papilloma virus DNA derived from a laryngeal papilloma. *J Virol*. Oktober 1982;44(1):393–400.
30. de Villiers EM, Gissmann L, zur Hausen H. Molecular cloning of viral DNA from human genital warts. *J Virol*. Dezember 1981;40(3):932–5.
31. Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U, Schnürch HG, zur Hausen H. Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Januar 1983;80(2):560–3.
32. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Juni 1983;80(12):3812–5.
33. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J*. Mai 1984;3(5):1151–7.
34. Gheit T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. *Front Oncol*. 2019;9:355.
35. Farrokh A, Maass-Poppenhusen K, Meinhold-Heerlein I, Maass N. Zervixkarzinom – Vorsorge, Diagnostik und Therapie. *Gynäkol*. Juni 2015;48(6):431–9.
36. Mebes I, Amari F, Diedrich K, Thill M, Beyer DA. Das humane Papillomavirus (HPV) in der Gynäkoonkologie. *Gynäkol*. April 2012;45(4):289–95.
37. IARC. Biological Agents [Internet]. [zitiert 3. September 2024]. Verfügbar unter: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Biological-Agents-2012>
38. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. August 2010;10(8):550–60.
39. Yang R, Yutzy WH, Viscidi RP, Roden RBS. Interaction of L2 with beta-actin directs intracellular transport of papillomavirus and infection. *J Biol Chem*. 4. April 2003;278(14):12546–53.

40. Papillomavirus Episteme (PaVE) Taxonomy Concept [Internet]. [zitiert 3. September 2024]. Verfügbar unter:
https://pave.niaid.nih.gov/explore/taxonomy/taxonomy_concept
41. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, u. a. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 1. August 2007;121(3):621–32.
42. Haedicke J, Iftner T. Human papillomaviruses and cancer. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. September 2013;108(3):397–402.
43. Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, u. a. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet Lond Engl*. 6. Dezember 2003;362(9399):1871–6.
44. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet Lond Engl*. 8. September 2007;370(9590):890–907.
45. Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sex Transm Dis*. November 2014;41(11):660–4.
46. Bujan Rivera J, Klug SJ. Gebärmutterhalskrebscreening in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*. Dezember 2018;61(12):1528–35.
47. Reich O, Regauer S, Marth C, Schmidt D, Horn LC, Dannecker C, u. a. Precancerous Lesions of the Cervix, Vulva and Vagina According to the 2014 WHO Classification of Tumors of the Female Genital Tract. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. Oktober 2015;75(10):1018–20.
48. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2. März 2011;103(5):368–83.
49. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell*. 5. November 1993;75(3):495–505.
50. zur Hausen H. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1994;186:131–56.
51. Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. 1941. *Arch Pathol Lab Med*. März 1997;121(3):211–24.

52. Schneider A, Von Knebel-Doeberitz M, Muth C, Kühn W, Von Keyserling H. Sekundäre Prävention des Zervixkarzinoms: aktueller Stand der Diagnostik. Gynäkol. Mai 2007;40(5):377–88.
53. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Deutsches Ärzteblatt. 2014 [zitiert 3. Oktober 2024]. Münchner Nomenklatur III: Gynäkologische Dysplasien werden klar zugeordnet. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/158926/Muenchner-Nomenklatur-III-Gynaekologische-Dysplasien-werden-klar-zugeordnet>
54. McCrory DC, Matchar DB, Bastian L, Datta S, Hasselblad V, Hickey J, u. a. Evaluation of cervical cytology. Evid Rep Technol Assess (Summ). Januar 1999;(5):1–6.
55. Quaas J, Wesselmann S, Küppers V. Zertifizierte Dysplasiesprechstunden/-einheiten: Stellenwert beim Zervixkarzinomscreening. Gynäkol. Mai 2016;49(5):319–22.
56. Hornemann A, Bohlmann MK, Diedrich K, Kavallaris A. Prävention des Zervixkarzinoms. Gynäkol. November 2009;42(11):853–8.
57. Hillemanns P, Iftner T. Neue sekundäre Prävention des Zervixkarzinoms ab 2020. Onkol. Juli 2020;26(7):591–7.
58. Ziemke P, Marquardt K. Biopsien im Zervixkarzinomscreening: Wert und Wirkung. Gynäkol. März 2021;54(3):207–12.
59. Girardi F, Tirri BF, Küppers V, Menton M, Quaas J, Reich O. Neue kolposkopische IFCPC-Nomenklatur der Cervix uteri (Rio de Janeiro 2011). 2012;
60. Küppers V, Reich O. Revidierte kolposkopische und zytologische Nomenklaturen: (Früh-)Erkennung und Therapie des Zervixkarzinoms. Gynäkol. Mai 2016;49(5):323–30.
61. Sehoul J, Lichtenegger W. Aktuelles Management des Zervixkarzinoms. Gynäkol. Mai 2006;39(5):379–94.
62. Zuchna C, Hager M, Tringler B, Georgouloupoulos A, Ciresa-Koenig A, Volgger B, u. a. Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen. Am J Obstet Gynecol. 2010;203(4):321.e1-321.e6.
63. Schmidt D. Moderne Biomarker bei Präkanzerosen der Cervix uteri: Histologische-zytologische Korrelation und Einsatz. Pathol. November 2016;37(6):534–41.
64. Schmidt D. Die neue S3-Leitlinie „Prävention des Zervixkarzinoms“: Was ist wichtig für die Pathologie? Pathol. Mai 2018;39(3):269–79.
65. Hillemanns P. Prävention von Zervix- und Vulvakarzinomen. Gynäkol. Juli 2008;41(7):500–7.

66. Seifert U, Klug SJ. Früherkennung des Zervixkarzinoms in Deutschland: Evidenz und Umsetzung. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz. März 2014;57(3):294–301.
67. Poljak M, Kocjan BJ. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. Expert Rev Anti Infect Ther. Oktober 2010;8(10):1139–62.
68. Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, u. a. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. Int J Cancer. 1. Februar 2009;124(3):516–20.
69. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R, Group for the ECinCS. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology. Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158–66.
70. Wentzensen N, Hampl M, Herkert M, Reichert A, Trunk MJ, Poremba C, u. a. Identification of high-grade cervical dysplasia by the detection of p16INK4a in cell lysates obtained from cervical samples. Cancer. 1. November 2006;107(9):2307–13.
71. Ikenberg H. HPV-Nachweis zur Triage bei auffälligen zytologischen Befunden. Gynäkol. April 2003;36(4):297–304.
72. Cuzick J, Bergeron C, von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT, u. a. New technologies and procedures for cervical cancer screening. Vaccine. 20. November 2012;30 Suppl 5:F107-116.
73. Trunk MJ, Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. [Molecular pathogenesis of cervical cancer and its first steps]. Pathol. Juli 2005;26(4):283–90.
74. von Knebel Doeberitz M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. Eur J Cancer Oxf Engl 1990. November 2002;38(17):2229–42.
75. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, Heller DS, Henry MR, Luff RD, u. a. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol. Januar 2013;32(1):76–115.
76. Reuschenbach M, Seiz M, von Knebel Doeberitz C, Vinokurova S, Duwe A, Ridder R, u. a. Evaluation of cervical cone biopsies for coexpression of p16INK4a and Ki-67 in epithelial cells. Int J Cancer. 15. Januar 2012;130(2):388–94.
77. Schmidt D. Plattenepitheliale Präkanzerosen der Cervix uteri. Pathol. Februar 2019;40(1):7–12.

78. Clinton LK, Miyazaki K, Ayabe A, Davis J, Tauchi-Nishi P, Shimizu D. The LAST guidelines in clinical practice: implementing recommendations for p16 use. *Am J Clin Pathol*. Dezember 2015;144(6):844–9.
79. Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, u. a. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. November 2002;26(11):1389–99.
80. Ziemke P, Marquardt K. p16INK4a- und Ki-67-Immunzytochemie als Zusatzmethode für die Gruppe IIID der gynäkologischen Zytologie. *Pathol*. Juli 2013;34(4):323–8.
81. WHO Guidelines for Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia 2–3 and Adenocarcinoma in situ: Cryotherapy, Large Loop Excision of the Transformation Zone, and Cold Knife Conization [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 [zitiert 5. Oktober 2024]. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee). Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK206775/>
82. Soergel P, Jentschke M, Noskowicz M, Hillemanns P. Zervixkarzinom – Vorsorge und Früherkennung. *Gynäkol*. September 2015;48(9):667–77.
83. Schmidmayr M, Kleinsorge F, Schnelzer A, Seifert-Klauss V, Kiechle M. Therapie der Infektion mit humanen Papillomviren: Optionen bei benignen und präinvasiven Erkrankungen assoziiert mit humanen Papillomviren. *Gynäkol*. September 2017;50(9):675–81.
84. Hillemanns P, Kampers J, Hachenberg J, Jentschke M. Impfung gegen humane Papillomviren. *Internist*. August 2021;62(8):816–26.
85. Kyrgiou M, Mitra A, Arbyn M, Paraskevaïdi M, Athanasiou A, Martin-Hirsch PPL, u. a. Fertility and early pregnancy outcomes after conservative treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev*. 29. September 2015;2015(9):CD008478.
86. Baldauf JJ, Baulon E, Thoma V, Akladios CY. [Prevention of obstetrical complications following LEEP, is it possible?]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. Januar 2014;43(1):19–25.
87. Kyrgiou M, Athanasiou A, Paraskevaïdi M, Mitra A, Kalliala I, Martin-Hirsch P, u. a. Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 28. Juli 2016;354:i3633.
88. 007-1071_Rationaler-therapeutischer-Einsatz-von-kaltem-physikalischem-Plasma_2022-02.pdf [Internet]. [zitiert 1. September 2024]. Verfügbar unter: https://register.awmf.org/assets/guidelines/007-1071_Rationaler-therapeutischer-Einsatz-von-kaltem-physikalischem-Plasma_2022-02.pdf

89. Marzi J, Stope MB, Henes M, Koch A, Wenzel T, Holl M, u. a. Noninvasive Physical Plasma as Innovative and Tissue-Preserving Therapy for Women Positive for Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Cancers*. 12. April 2022;14(8):1933.
90. Langmuir I. Oscillations in Ionized Gases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. August 1928;14(8):627–37.
91. Vajenine GV. Use of plasma-activated gases in synthesis of solid-state nitrides. *Dalton Trans*. 22. Juni 2010;39(26):6013–7.
92. Von Woedtke T, Weltmann KD. Grundlagen der Plasmamedizin. *MKG-Chir*. November 2016;9(4):246–54.
93. Gerling T, Weltmann KD. Einführung in Atmosphärendruck-Plasmaquellen für plasmamedizinische Anwendungen. In 2016. S. 3–15.
94. Rehman MU, Jawaid P, Uchiyama H, Kondo T. Comparison of free radicals formation induced by cold atmospheric plasma, ultrasound, and ionizing radiation. *Arch Biochem Biophys*. 1. September 2016;605:19–25.
95. Weiss M, Gümberl D, Hanschmann EM, Mandelkow R, Gelbrich N, Zimmermann U, u. a. Cold Atmospheric Plasma Treatment Induces Anti-Proliferative Effects in Prostate Cancer Cells by Redox and Apoptotic Signaling Pathways. *PloS One*. 2015;10(7):e0130350.
96. Emmert S, Van Welzen A, Masur K, Gerling T, Bekeschus S, Eschenburg C, u. a. Kaltes Atmosphärendruckplasma zur Behandlung akuter und chronischer Wunden. *Hautarzt*. November 2020;71(11):855–62.
97. Fridman A, Chirokov A, Gutsol A. Non-Thermal Atmospheric Pressure Discharges. *J Phys Appl Phys*. 6. Januar 2005;38:R1.
98. Janzen G. *Plasmatechnik: Grundlagen, Anwendungen, Diagnostik*. Heidelberg: Hüthig; 1992. 334 S. (Technische Physik).
99. Karrer S, Arndt S. Plasmamedizin in der Dermatologie: Wirkmechanismen und Anwendungsmöglichkeiten. *Hautarzt*. November 2015;66(11):819–28.
100. Hoffmann C, Berganza C, Zhang J. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Med Gas Res*. 1. Oktober 2013;3(1):21.
101. Wiegand C, Elsner P. Plasmamedizin – Kaltes Plasma zur Behandlung von Hautinfektionen. *Aktuelle Dermatol*. 31. August 2017;43:339–45.
102. Kramer A, Bekeschus S, Matthes R, Bender C, Stope MB, Napp M, u. a. Cold Physical Plasmas in the Field of Hygiene—Relevance, Significance, and Future Applications. *Plasma Process Polym*. 2015;12(12):1410–22.

103. Raiser J, Zenker M. Argon plasma coagulation for open surgical and endoscopic applications: state of the art. *J Phys Appl Phys.* August 2006;39(16):3520–3.
104. Metelmann HR, Woedtke T von, Weltmann KD, Herausgeber. *Plasmamedizin: Kaltplasma in der medizinischen Anwendung.* Berlin Heidelberg: Springer; 2016. 225 S.
105. Werra UEM, Zinser M, Dorweiler B. Physikalische Interventionen als Alternative/Ergänzung zum chirurgischen Wunddebridement: Ultraschall, Kaltplasma und LASER/Photobiomodulation. *Gefäßchirurgie.* März 2022;27(2):129–34.
106. Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia LH. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *Int J Pharm.* 11. September 2001;226(1–2):1–21.
107. von Woedtke Th, Reuter S, Masur K, Weltmann KD. Plasmas for medicine. *Phys Rep.* 30. September 2013;530(4):291–320.
108. Al-Saadi H, Potapova I, Rochford ET, Moriarty TF, Messmer P. Ozonated saline shows activity against planktonic and biofilm growing *Staphylococcus aureus* in vitro: a potential irrigant for infected wounds. *Int Wound J.* Oktober 2016;13(5):936–42.
109. Rácz E, Prens EP. Phototherapy of Psoriasis, a Chronic Inflammatory Skin Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2017;996:287–94.
110. Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, Majumdar A, von Woedtke T, Haase H, u. a. Cold plasma is well-tolerated and does not disturb skin barrier or reduce skin moisture. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* Juli 2012;10(7):509–15.
111. Schoenthaler M, Farin E, Karcz WK, Ardelt P, Wetterauer U, Miernik A. Der Freiburger Index für Patientenzufriedenheit. *DMW - Dtsch Med Wochenschr.* 21. Februar 2012;137:419–24.
112. Yan D, Sherman JH, Keidar M. Cold atmospheric plasma, a novel promising anti-cancer treatment modality. *Oncotarget.* 28. Februar 2017;8(9):15977–95.
113. Cervical Cancer Elimination Initiative [Internet]. [zitiert 8. September 2024]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/initiatives/cervical-cancer-elimination-initiative>
114. Gultekin M, Ramirez PT, Broutet N, Hutubessy R. World Health Organization call for action to eliminate cervical cancer globally. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc.* April 2020;30(4):426–7.
115. Pinder LF, Parham GP, Basu P, Muwonge R, Lucas E, Nyambe N, u. a. Thermal ablation versus cryotherapy or loop excision to treat women positive for cervical

- precancer on visual inspection with acetic acid test: pilot phase of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* Januar 2020;21(1):175–84.
116. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol.* April 1993;12(2):186–92.
 117. Rintala MA, Rantanen VT, Salmi TA, Klemi PJ, Grénman SE. PAP smear after radiation therapy for cervical carcinoma. *Anticancer Res.* 1997;17(5B):3747–50.
 118. Weiss M, Arnholdt M, Hißnauer A, Fischer I, Schönfisch B, Andress J, u. a. Tissue-preserving treatment with non-invasive physical plasma of cervical intraepithelial neoplasia-a prospective controlled clinical trial. *Front Med.* 2023;10:1242732.
 119. Dresang LT. Colposcopy: an evidence-based update. *J Am Board Fam Pract.* 2005;18(5):383–92.
 120. HPV und Krebs [Internet]. 2021 [zitiert 25. September 2024]. Verfügbar unter: <https://www.krebsinformationsdienst.de/krebs-vorbeugen/krebsrisiko-hpv>
 121. Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural History of Cervicovaginal Papillomavirus Infection in Young Women. *N Engl J Med.* 12. Februar 1998;338(7):423–8.
 122. Kocken M, Helmerhorst TJM, Berkhof J, Louwers JA, Nobbenhuis MAE, Bais AG, u. a. Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: a long-term multi-cohort study. *Lancet Oncol.* Mai 2011;12(5):441–50.
 123. Viscidi RP, Schiffman M, Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, Bratti MC, u. a. Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18, or 31 and risk of subsequent HPV infection: results from a population-based study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* Februar 2004;13(2):324–7.
 124. Europäischer Kodex zur Krebsbekämpfung - Wie lange hält der Impfschutz an? [Internet]. [zitiert 26. September 2024]. Verfügbar unter: <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/de/12-moeglichkeiten/impfungen-und-infektionen/humanes-papillomavirus-hpv/1054-wie-lange-haelt-der-impfschutz-an>
 125. Olsson SE, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, u. a. Evaluation of quadrivalent HPV 6/11/16/18 vaccine efficacy against cervical and anogenital disease in subjects with serological evidence of prior vaccine type HPV infection. *Hum Vaccin.* Oktober 2009;5(10):696–704.
 126. Schreckenberger C, Kaufmann AM. Impfung gegen humane Papillomviren nach Zervixdysplasie und Genitalwarzen: Postkonisationsprophylaxe. *Gynäkol.* September 2017;50(9):687–94.

127. Kjaer SK, Breugelmans G, Munk C, Junge J, Watson M, Iftner T. Population-based prevalence, type- and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark. *Int J Cancer*. 15. Oktober 2008;123(8):1864–70.
128. Kaufmann AM. Primäre Prävention des Zervixkarzinoms und dessen Vorstufen. *Onkol*. Januar 2012;18(1):20–6.
129. Di Donato V, Caruso G, Petrillo M, Kontopantelis E, Palaia I, Perniola G, u. a. Adjuvant HPV Vaccination to Prevent Recurrent Cervical Dysplasia after Surgical Treatment: A Meta-Analysis. *Vaccines*. 21. April 2021;9(5):410.
130. Jentschke M, Kampers J, Becker J, Sibbertsen P, Hillemanns P. Prophylactic HPV vaccination after conization: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 22. September 2020;38(41):6402–9.
131. Lichter K, Krause D, Xu J, Tsai SHL, Hage C, Weston E, u. a. Adjuvant Human Papillomavirus Vaccine to Reduce Recurrent Cervical Dysplasia in Unvaccinated Women: A Systematic Review and Meta-analysis. *Obstet Gynecol*. Mai 2020;135(5):1070–83.
132. Dannecker C. HPV-Impfung nach Therapie einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie (CIN/HSIL). *Gynäkol*. November 2021;54(11):816–9.
133. Bogani G, Raspagliesi F, Sopracordevole F, Ciavattini A, Ghelardi A, Simoncini T, u. a. Assessing the Long-Term Role of Vaccination against HPV after Loop Electrosurgical Excision Procedure (LEEP): A Propensity-Score Matched Comparison. *Vaccines*. 1. Dezember 2020;8(4):717.
134. Trunk MJ, Dallenbach-Hellweg G, Ridder R, Petry KU, Ikenberg H, Schneider V, u. a. Morphologic characteristics of p16INK4a-positive cells in cervical cytology samples. *Acta Cytol*. 2004;48(6):771–82.
135. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, Denton K, Bogers J, Schmidt D, u. a. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol*. Juni 2015;123(6):373–81.
136. Vorstufen von Gebärmutterhalskrebs, Untersuchungen, Behandlung [Internet]. 2020 [zitiert 6. Oktober 2024]. Verfügbar unter: <https://www.krebsinformationsdienst.de/gebaermutterhalskrebs/pap-test-und-vorstufen>
137. Dunn TS, Killoran K, Wolf D. Complications of outpatient LLETZ procedures. *J Reprod Med*. Februar 2004;49(2):76–8.
138. Kornovska Y, Tomov S, Yordanov A. LLETZ Procedure in an Outpatient Setting: Applicability and Cost-Effectiveness. *J Biomed Clin Res*. 1. Juni 2022;15:58–64.

139. Sinha K, Das J, Pal PB, Sil PC. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol.* Juli 2013;87(7):1157–80.
140. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* März 2000;21(3):361–70.
141. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* Juni 2006;141(2):312–22.
142. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* 15. Juli 1993;215(2):213–9.
143. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 1. Februar 2002;82:47–95.
144. Isbary G, Morfill G, Schmidt H u., Georgi M, Ramrath K, Heinlin J, u. a. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *Br J Dermatol.* 2010;163(1):78–82.
145. Lademann J, Richter H, Alborova A, Humme D, Patzelt A, Kramer A, u. a. Risk assessment of the application of a plasma jet in dermatology. *J Biomed Opt.* 2009;14(5):054025.
146. Desravines N, Miele K, Carlson R, Chibwasha C, Rahangdale L. Topical therapies for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2–3: A narrative review. *Gynecol Oncol Rep.* August 2020;33:100608.
147. Van Pachterbeke C, Bucella D, Rozenberg S, Manigart Y, Gilles C, Larsimont D, u. a. Topical treatment of CIN 2+ by cidofovir: results of a phase II, double-blind, prospective, placebo-controlled study. *Gynecol Oncol.* Oktober 2009;115(1):69–74.
148. Grimm C, Polterauer S, Natter C, Rahhal J, Hefler L, Tempfer CB, u. a. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia with topical imiquimod: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* Juli 2012;120(1):152–9.
149. Chen FP. Efficacy of imiquimod 5% cream for persistent human papillomavirus in genital intraepithelial neoplasm. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Dezember 2013;52(4):475–8.
150. Lin CT, Qiu JT, Wang CJ, Chang SD, Tang YH, Wu PJ, u. a. Topical imiquimod treatment for human papillomavirus infection in patients with and without cervical/vaginal intraepithelial neoplasia. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Dezember 2012;51(4):533–8.
151. Pachman DR, Barton DL, Clayton AC, McGovern RM, Jefferies JA, Novotny PJ, u. a. Randomized clinical trial of imiquimod: an adjunct to treating cervical dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* Januar 2012;206(1):42.e1-7.

152. de Witte CJ, van de Sande AJM, van Beekhuizen HJ, Koeneman MM, Kruse AJ, Gerestein CG. Imiquimod in cervical, vaginal and vulvar intraepithelial neoplasia: a review. *Gynecol Oncol*. November 2015;139(2):377–84.
153. Grillo-Ardila CF, Angel-Müller E, Salazar-Díaz LC, Gaitán HG, Ruiz-Parra AI, Lethaby A. Imiquimod for anogenital warts in non-immunocompromised adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 1. November 2014;2014(11):CD010389.
154. Hendriks N, Koeneman MM, van de Sande AJM, Penders CGJ, Piek MJM, Kooreman LFS, u. a. Topical Imiquimod Treatment of High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (TOPIC-3): A Nonrandomized Multicenter Study. *J Immunother*. April 2022;45(3):180–6.
155. Helm CW, Lorenz DJ, Meyer NJ, Rising WWR, Wulff JL. Retinoids for preventing the progression of cervical intra-epithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev*. 6. Juni 2013;2013(6):CD003296.
156. Schneider A, Grubert T, Kirchmayr R, Wagner D, Papendick U, Schlunck G. Efficacy trial of topically administered interferon gamma-1 beta gel in comparison to laser treatment in cervical intraepithelial neoplasia. *Arch Gynecol Obstet*. 1995;256(2):75–83.
157. Hubert P, Doyen J, Capelle X, Arafa M, Renoux V, Bisig B, u. a. Local applications of GM-CSF induce the recruitment of immune cells in cervical low-grade squamous intraepithelial lesions. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 1. August 2010;64(2):126–36.
158. Weis SE. Current treatment options for management of anal intraepithelial neoplasia. *OncoTargets Ther*. 10. Juni 2013;6:651–65.
159. Krebs HB, Helmkamp BF. Chronic ulcerations following topical therapy with 5-fluorouracil for vaginal human papillomavirus-associated lesions. *Obstet Gynecol*. August 1991;78(2):205–8.
160. Bossens M, Jost M, Van Pachterbeke C, De Maertelaer V, Simon P, Frankenne F, u. a. Safety and tolerance of cidofovir as a 2% gel for local application in high-grade cervical intraepithelial neoplasia: A phase 1 investigation. *Int J Clin Pharmacol Ther*. März 2018;56(3):134–41.
161. Hampson L, Maranga IO, Masinde MS, Oliver AW, Batman G, He X, u. a. A Single-Arm, Proof-Of-Concept Trial of Lopimune (Lopinavir/Ritonavir) as a Treatment for HPV-Related Pre-Invasive Cervical Disease. *PloS One*. 2016;11(1):e0147917.
162. Niwa K, Tagami K, Lian Z, Gao J, Mori H, Tamaya T. Topical vidarabine or 5-fluorouracil treatment against persistent HPV in genital (pre)cancerous lesions. *Oncol Rep*. 2003;10(5):1437–41.

163. Khanna N, Dalby R, Connor A, Church A, Stern J, Frazer N. Phase I clinical trial of repeat dose terameprocol vaginal ointment in healthy female volunteers. *Sex Transm Dis.* Juni 2008;35(6):577–82.
164. Hefler L, Grimm C, Tempfer C, Reinthaller A. Treatment with Vaginal Progesterone in Women with Low-grade Cervical Dysplasia: A Phase II Trial. *Anticancer Res.* 1. April 2010;30:1257–61.
165. Suh-Burgmann E, Sivret J, Duska LR, Del Carmen M, Seiden MV. Long-term administration of intravaginal dehydroepiandrosterone on regression of low-grade cervical dysplasia--a pilot study. *Gynecol Obstet Invest.* 2003;55(1):25–31.
166. Ashrafian L, Sukhikh G, Kiselev V, Paltsev M, Druk V, Kuznetsov I, u. a. Double-blind randomized placebo-controlled multicenter clinical trial (phase IIa) on diindolylmethane's efficacy and safety in the treatment of CIN: implications for cervical cancer prevention. *EPMA J.* 2015;6:25.
167. Stentella P, Biamonti A, Carraro C, Inghirami P, Mancino P, Pietrangeli D, u. a. Efficacy of carboxymethyl beta-glucan in cervical intraepithelial neoplasia: a retrospective, case-control study. *Minerva Ginecol.* Oktober 2017;69(5):425–30.
168. Swanick S, Windstar K, Zwickey H. An Alternative Treatment for Cervical Intraepithelial Neoplasia II, III. *Integr Cancer Ther.* 1. Juni 2009;8:164–7.
169. Ahn WS, Yoo J, Huh SW, Kim CK, Lee JM, Namkoong SE, u. a. Protective effects of green tea extracts (polyphenon E and EGCG) on human cervical lesions. *Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP.* Oktober 2003;12(5):383–90.
170. Joshi J, Paradkar P, Jagtap SS, Agashe S, Soman G, Vaidya A. Chemopreventive Potential and Safety Profile of a Curcuma longa Extract in Women with Cervical Low-Grade Squamous Intraepithelial Neoplasia. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP.* 1. Januar 2011;12:3305–11.
171. Shukla S, Bharti A, Hussain S, Mahata S, Hedau S, Kailash U, u. a. Elimination of high-risk human papillomavirus type HPV16 infection by „Praneem“ polyherbal tablet in women with early cervical intraepithelial lesions. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1. Juli 2009;135:1701–9.
172. Mh V, Ac P, Th Q, Av G, Cv L. Clinical response to glycyrrhizinic acid in genital infection due to human papillomavirus and low-grade squamous intraepithelial lesion. *Clin Pract [Internet].* 11. August 2011 [zitiert 10. Oktober 2024];1(4). Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24765393/>
173. Boeckmann L, Bernhardt T, Schäfer M, Semmler ML, Kordt M, Waldner A -C., u. a. Aktuelle Indikationen der Plasmatherapie in der Dermatologie. *Hautarzt.* Februar 2020;71(2):109–13.
174. Maisch T, Shimizu T, Li YF, Heinlin J, Karrer S, Morfill G, u. a. Decolonisation of MRSA, *S. aureus* and *E. coli* by cold-atmospheric plasma using a porcine skin model in vitro. *PloS One.* 2012;7(4):e34610.

175. Maisch T, Shimizu T, Mitra A, Heinlin J, Karrer S, Li YF, u. a. Contact-free cold atmospheric plasma treatment of *Deinococcus radiodurans*. *J Ind Microbiol Biotechnol*. September 2012;39(9):1367–75.
176. Dobrynin D, Fridman G, Friedman G, Fridman A. Physical and biological mechanisms of plasma interaction with living tissue. *New J Phys*. 1. November 2009;11:115020.
177. Daeschlein G, Scholz S, Arnold A, von Podewils S, Haase H, Emmert S, u. a. In Vitro Susceptibility of Important Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). *Plasma Process Polym*. 1. April 2012;9:380–9.
178. Isbary G, Shimizu T, Zimmermann J, Heinlin J, Al-Zaabi S, Rechfeld M, u. a. Randomized placebo-controlled clinical trial showed cold atmospheric argon plasma relieved acute pain and accelerated healing in herpes zoster. *Clin Plasma Med*. 1. Juli 2014;2.
179. Xiong Z, Roe J, Grammer TC, Graves DB. Plasma Treatment of Onychomycosis. *Plasma Process Polym*. 1. Juni 2016;13(6):588–97.
180. Seebauer C, Metelmann HR. Klinik und Praxis der Plasmamedizin. *MKG-Chir*. November 2016;9(4):255–68.
181. Haertel B, von Woedtke T, Weltmann KD, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomol Ther*. November 2014;22(6):477–90.
182. Tiede R, Helmke A, Wandke D, Viöl W, Emmert S. PlasmaDerm®: kaltes Atmosphärendruckplasma als Spitzeninnovation. *Spitzenforschung Dermatol* ISSN 1861-4620. 1. Januar 2015;2015:70.
183. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. Mai 2010;44(5):479–96.
184. Hirst AM, Simms MS, Mann VM, Maitland NJ, O’Connell D, Frame FM. Low-temperature plasma treatment induces DNA damage leading to necrotic cell death in primary prostate epithelial cells. *Br J Cancer*. 28. April 2015;112(9):1536–45.
185. Park SB, Kim B, Bae H, Lee H, Lee S, Choi EH, u. a. Differential Epigenetic Effects of Atmospheric Cold Plasma on MCF-7 and MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *PLoS ONE*. 4. Juni 2015;10(6):e0129931.
186. Gwangwa MV, Joubert AM, Visagie MH. Crosstalk between the Warburg effect, redox regulation and autophagy induction in tumourigenesis. *Cell Mol Biol Lett*. 4. Mai 2018;23(1):20.
187. Ishaq M, Evans M (Meg), Ostrikov K (Ken). Effect of atmospheric gas plasmas on cancer cell signaling. *Int J Cancer*. April 2014;134(7):1517–28.

188. Volotskova O, Hawley TS, Stepp MA, Keidar M. Targeting the cancer cell cycle by cold atmospheric plasma. *Sci Rep.* 6. September 2012;2:636.
189. Graves DB. The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *J Phys Appl Phys.* Juni 2012;45(26):263001.
190. Lin A, Xiang B, Merlino D, Baybutt T, Sahu J, Fridman A, u. a. Non-thermal plasma induces immunogenic cell death in vivo in murine CT26 colorectal tumors. *OncoImmunology.* 12. Juni 2018;7.
191. INP-Jahresbericht_2018-2019_deutsch_web.pdf [Internet]. [zitiert 12. Oktober 2024]. Verfügbar unter: https://www.inp-greifswald.de/fileadmin/user_upload/documents/INP-Jahresbericht_2018-2019_deutsch_web.pdf
192. Kieft IE, Broers JLV, Caubet-Hilloutou V, Slaaf DW, Ramaekers FCS, Stoffels E. Electric discharge plasmas influence attachment of cultured CHO K1 cells. *Bioelectromagnetics.* Juli 2004;25(5):362–8.
193. Kieft I, Darios D, Roks A, Stoffels E. Plasma Treatment of Mammalian Vascular Cells: A Quantitative Description. *Plasma Sci IEEE Trans On.* 1. Mai 2005;33:771–5.
194. Fridman G, Shereshevsky A, Jost M, Brooks A, Fridman A, Gutsol A, u. a. Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge Plasma in Air Promoting Apoptotic Behavior in Melanoma Skin Cancer Cell Lines. *Plasma Chem Plasma Process.* 22. März 2007;27.
195. Dubuc A, Monsarrat P, Virard F, Merbahi N, Sarrette JP, Laurencin-Dalicioux S, u. a. Use of cold-atmospheric plasma in oncology: a concise systematic review. *Ther Adv Med Oncol.* 20. Juli 2018;10:1758835918786475.
196. Koengen D, Besic I, Gumbel D, Kaul A, Weiss M, Diesing K, u. a. Cold Atmospheric Plasma (CAP) and CAP-Stimulated Cell Culture Media Suppress Ovarian Cancer Cell Growth – A Putative Treatment Option in Ovarian Cancer Therapy. *Anticancer Res.* 1. Dezember 2017;37(12):6739–44.
197. Partecke LI, Evert K, Haugk J, Doering F, Normann L, Diedrich S, u. a. Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer.* 15. Oktober 2012;12:473.
198. Wang M, Holmes B, Cheng X, Zhu W, Keidar M, Zhang LG. Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells. *PloS One.* 2013;8(9):e73741.
199. Weiss M, Gumbel D, Gelbrich N, Brandenburg LO, Mandelkow R, Zimmermann U, u. a. Inhibition of Cell Growth of the Prostate Cancer Cell Model LNCaP by Cold Atmospheric Plasma. *Vivo Athens Greece.* 2015;29(5):611–6.

200. Weiss M, Utz R, Ackermann M, Taran FA, Kraemer B, Hahn M, u. a. Characterization of a non-thermally operated electrosurgical argon plasma source by electron spin resonance spectroscopy. *Plasma Process Polym.* 12. November 2018;16:1800150.
201. Wenzel T, Carvajal Berrio DA, Reisenauer C, Layland S, Koch A, Wallwiener D, u. a. Trans-Mucosal Efficacy of Non-Thermal Plasma Treatment on Cervical Cancer Tissue and Human Cervix Uteri by a Next Generation Electrosurgical Argon Plasma Device. *Cancers.* 22. Januar 2020;12(2):267.
202. Ishaq M, Evans MDM, Ostrikov KK. Atmospheric pressure gas plasma-induced colorectal cancer cell death is mediated by Nox2-ASK1 apoptosis pathways and oxidative stress is mitigated by Srx-Nrf2 anti-oxidant system. *Biochim Biophys Acta.* Dezember 2014;1843(12):2827–37.
203. Gandhirajan RK, Rödder K, Bodnar Y, Pasqual-Melo G, Emmert S, Griguer CE, u. a. Cytochrome C oxidase Inhibition and Cold Plasma-derived Oxidants Synergize in Melanoma Cell Death Induction. *Sci Rep.* 24. August 2018;8(1):12734.
204. Brullé L, Vandamme M, Riès D, Martel E, Robert E, Lerondel S, u. a. Effects of a non thermal plasma treatment alone or in combination with gemcitabine in a MIA PaCa2-luc orthotopic pancreatic carcinoma model. *PloS One.* 2012;7(12):e52653.

9 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Department für Frauengesundheit der Universitäts-Frauenklinik Tübingen unter Betreuung von Jun. Prof. Dr. med. Martin Weiss durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Melanie Henes (Leitung Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Dysplasie der Universitäts-Frauenklinik Tübingen) und Jun. Prof. Dr. med. Martin Weiss (Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik Tübingen).

Die Nachuntersuchungen der LLETZ-Präparate erfolgten in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Hans Bösmüller (Leitung MVZ; geschäftsführender Oberarzt, des Instituts für Allgemeine und Molekulare Pathologie und Pathologische Anatomie der Universitätsklinik Tübingen)

Die Erhebung der Datenmatrix der NIPP-Gruppe erfolgte eigenständig durch mich. Die zugrunde gelegte Datenmatrix der Kontrollgruppe wurde initial durch Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Departments für Frauengesundheit angelegt und durch mich revidiert und ergänzt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Imma Fischer (Institut für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen) durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Buch, den 01.12.2024

Anna Hahn

10 Veröffentlichungen

Frontiers in medicine – 08/2023

Martin Weiss, Marcel Arnholdt, **Anna Hißnauer**, Irma Fischer, Birgitt Schönfisch, Jürgen Andress, Sophia Gerstner, Dominik Dannehl, Hans Bösmüller, Annette Staebler, Sara Y Brucker, Melanie Henes. Tissue-preserving treatment with non-invasive physical plasma of cervical intraepithelial neoplasia- a prospective controlled clinical trial. DOI: 10.3389/fmed.2023.1242732.

11 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mich während der Entstehung dieser Dissertation unterstützt und begleitet haben.

Allen voran danke ich meinem Doktorvater Jun. Prof. Dr. med. Martin Weiss für die Bereitstellung des Themas sowie die hervorragende Betreuung, die fachliche Unterstützung und die wertvollen Anregungen während der gesamten Promotionszeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Hans Bösmüller für die Zusammenarbeit bei der Nachuntersuchung der LLETZ-Präparate sowie für seine Expertise im Bereich der Pathologie bedanken. Für die statistische Beratung danke ich Imma Fischer vom Institut für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Meinen Eltern danke ich für die langjährige Unterstützung, Ermutigung und Begleitung während der Promotion und des gesamten Studiums. Meiner Schwester Julia danke ich für ihre humorvolle Begleitung und aufmunternden Worte in allen Phasen dieser Arbeit.

Ganz besonders danke ich meinem Mann Lukas für seine Geduld, seine Unterstützung und dafür, dass er mir stets den Rücken freigehalten hat – in allen Höhen und Tiefen dieser Promotion.

Und schließlich danke ich meinem Sohn Willi, der kurz vor Abschluss dieser Arbeit das Licht der Welt erblickte und mich täglich daran erinnert, was im Leben wirklich zählt.