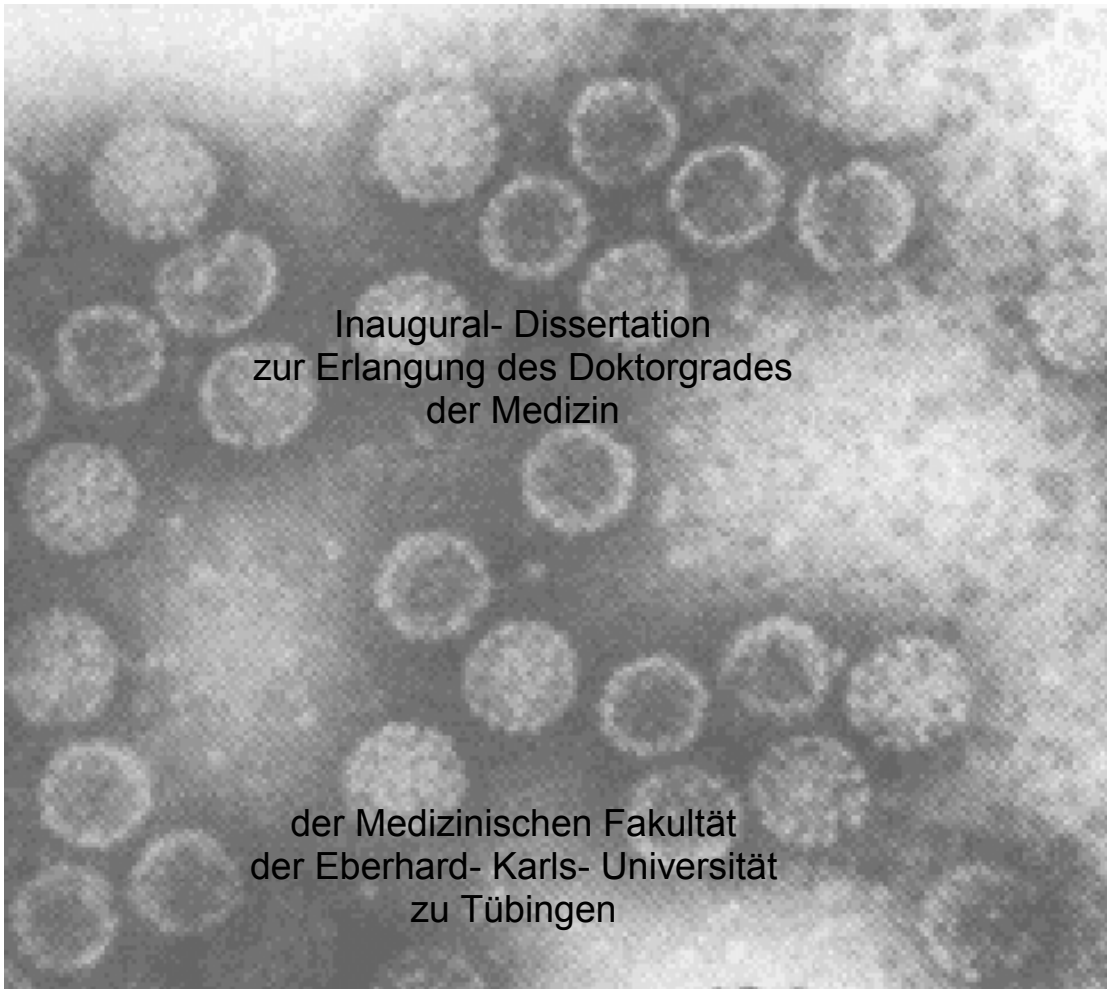
Aus der Universitätsfrauenklinik mit Poliklinik Tübingen
Abteilung Allgemeine Geburtshilfe und Frauenheilkunde
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. D. Wallwiener

Klinische Relevanz kolposkopischer Befunde und molekularbiologischer Parameter bei nicht dysplastischen und dysplastischen Veränderungen der Cervix uteri



Inaugural- Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard- Karls- Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jeannine Bachmann
aus Tübingen

2003

Aus der Universitätsfrauenklinik mit Poliklinik Tübingen
Abteilung Allgemeine Geburtshilfe und Frauenheilkunde
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. D. Wallwiener

Klinische Relevanz kolposkopischer Befunde und molekularbiologischer Parameter bei nicht dysplastischen und dysplastischen Veränderungen der Cervix uteri

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard- Karls- Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jeannine Bachmann
aus Tübingen

2003

Dekan:	Professor Dr. C. Claussen
1. Berichterstatter:	Professor Dr. M. Menton
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. G. Oettling

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

I. EINLEITUNG 1

1. EPIDEMIOLOGIE DES ZERVIXKARZINOMS 1

1.1. Ätiologie des Zervixkarzinoms 1

2. PAPILLOMAVIREN 3

2.1. Tierpathogene Papillomaviren 4
2.1.1. Shope- Papillomavirus 4
2.1.2. Bovines Papillomavirus, BPV 4

2.2. Humanpathogene Papillomaviren, HPV 5
2.2.1. Das Genom der Papillomaviren 6
2.2.1.1. URR: upstream regulatory region 7
2.2.1.2. Übersicht über die Funktion der HPV- Gene der E- Region 7
2.2.1.2.1.Übersicht über die Funktion der Gene E1/ E2/ E4/ E5/ E8 8
2.2.1.2.2.Übersicht über die Funktion der HPV- Gene E6 und E7 10
2.2.1.3. Die Funktion der HPV- Gene der L- Region 12
2.2.2. Prävalenz von Infektionen mit humanen Papillomaviren 13
2.2.3. Prävalenz von HPV- Infektionen bei Schwangeren 15
2.2.4. Inzidenz von Infektionen mit humanen Papillomaviren 15

2.3. Verlauf der Infektion mit humanen Papillomaviren 16
2.3.1. Humane Papillomaviren- „High Risk"/ „Low risk" 17
2.3.1.1. Status der HPV 16 DNA in präneoplastischen und neoplastischen Läsionen 18
2.3.1.2. Verlauf der Infektion mit Papillomaviren an der Portio 19

2.4. Nachweis von Papillomaviren- mittels der Polymerase- Kettenreaktion/ PCR 20
2.4.1. Technik der PCR 21

3. KOLPOSKOPIE 23

3.1. Hilfsmittel bei der kolpoksopischen Untersuchung 24
3.1.1. Essigprobe 24
3.1.2. Jodprobe 26

3.2. Kolposkopisch auffällige Befunde 27
3.2.1. Leukoplakie 27
3.2.2. Essigpositive Areale 28
3.2.3. Punktierung und Mosaik 29

4. ZYTOLOGISCHE DIAGNOSTIK 30

4.1. Morphologie HPV- positiver Zellen 32

5. HISTOLOGISCHE DIAGNOSTIK 33

5.1. Histologische Diagnosen 34
5.1.1. Zervizitis 34
5.1.2. Plattenepithelmetaplasie 35
5.1.3. Cervikale intraepitheliale Neoplasie: CIN 35

5.1.3.1. CIN I 36
5.1.3.2. CIN II 36
5.1.3.3. CIN III 37
5.1.3.4. Natürlicher Verlauf der cervikalen intraepithelialen Neoplasie 38
5.1.4. Histologische Differenzierung des Zervixkarzinoms 38

5.2. Schwierigkeiten der histologischen Diagnostik 39

II. MATERIAL UND METHODIK 41

6. PATIENTINNEN 41

6.1. Überweisungsgründe 41

7. DIAGNOSTISCHE METHODEN 42

7.1. Kolposkopie 42

7.2. Zytologische Diagnostik 43
7.2.1. Münchner Nomenklatur II 44

7.3. Histologische Diagnostik 45
7.3.1. Histologische Diagnosen 45

7.4.. Polymerase- Kettenreaktion- PCR 46

8. STATISTISCHE METHODEN 46

III. ERGEBNISSE 47

9 KOLPOSKOPISCH AUFFÄLLIGE BEFUNDE 47

9.1. Alter bei Diagnosestellung 47

9.2. Relative Häufigkeit des kolposkopischen Befundes „essigpositives Areal“ 48
9.2.1. Weitere Differenzierungen der essigpositiven Reaktion 49
9.2.1.1. Farbreaktion 49
9.2.1.2. Oberflächenbeschaffenheit einer essigpositiven Läsion 51

9.3. Mosaik 52
9.3.1. Oberflächenbeschaffenheit des Mosaik 54

9.4. Punktierung 55
9.4.1. Differenzierung einer Punktierung 56

9.5. Kombinationen kolposkopischer Befunde 57

9.6. Kolposkopie 58
9.6.1. Kolposkopische Beurteilung 58
9.6.2. Verläßlichkeit der Einschätzung des Untersuchers 59

10. INFEKTIONEN MIT HUMANEN PAPILLOMAVIREN 60

10.1. HPV- Nachweis bei unterschiedlichen histologischen Diagnosen 60
10.1.1. Infektionen unterteilt in Einfach/ Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle 62
10.1.2. Infektionen mit humanen Papillomaviren bezogen auf die histologische Diagnose 63
10.1.3. Infektionen mit humanen Papillomaviren abhängig vom Alter 65
10.1.4. Infektionen mit Papillomaviren abhängig vom Alter 66
10.1.5. Nachweis der onkogenen Transkripte E6/ E7 67

11. GESONDERTE UNTERSUCHUNG BEI NICHT- DYSPLASTISCHEN LÄSIONEN: ZERVIZITIS 68

11.1. Zytologie bei Zervizitis (N= 63) 68

11.2. Kolposkopische Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis 68

11.3. HPV- Infektionen bei Zervizitis 69

12. ÜBERWEISUNGSDIAGNOSE „KONTAKTBLUTUNGEN“ 69

12.1. Zytologische Befunde 69

12.2. Kolposkopische Beurteilung 69

12.3. Histologische Diagnose bei Kontaktblutungen 70

IV. DISKUSSION 71

13. ALTER BEI DIAGNOSESTELLUNG 71

14.KOLPOSKOPISCH AUFFÄLLIGE BEFUNDE 72

14.1. Relative Häufigkeit des kolposkopischen Befundes „essigpositives Areal“ bezüglich des histologischen Befundes 72
14.1.1. Differenzierung der essigpositiven Reaktion 72

14.2. Mosaik 75

14.3. Punktierung 76

14.4. Kombinationen der kolposkopischen Befunde essig- positive Areale, Mosaikstrukturen und Punktierungen 77

14.5. KOLPOSKOPISCH SCHWERGRADIGE BEFUNDE 78

14.6. Kolposkopische Beurteilung 79

15. INFEKTIONEN MIT HUMANEN PAPILLOMAVIREN 80

15.1. Differenzierung der HPV- positiven Fälle 82

15.2. Infektionen mit Papillomaviren abhängig vom Alter 85

15.3. Nachweis der onkogenen Transkripte E6 und E7 in Abhängigkeit von der histologischen Diagnose 86

16. GESONDERTE UNTERSUCHUNG BEI NICHT- DYSPLASTISCHEN LÄSIONEN: ZERVIZITIS 87

17. GESONDERTE UNTERSUCHUNG BEI DER ÜBERWEISUNGSDIAGNOSE „KONTAKTBLUTUNG“ 88

V. ZUSAMMENFASSUNG 90

VI. LITERATURVERZEICHNIS: 93

VII. DANKSAGUNG 103

VIII. LEBENSLAUF 104

Abkürzungsverzeichnis

BPV	Bovines Papillomavirus
CIN I	cervikale intraepitheliale Neoplasie Grad I
CIN II	cervikale intraepitheliale Neoplasie Grad II
CIN III	cervikale intraepitheliale Neoplasie Grad III
DNA	Desoxyxribonukleinsäure
HPV	Humanes Papillomavirus
RNA	Ribonukleinsäure
URR	Upstream regulatory region

Verzeichnis der Tabellen

		Seite
Tabelle 1	HPV- Typen und deren typischerweise verursachten Erscheinungen	6
Tabelle 2	Überweisungsdiagnosen	41
Tabelle 3	Reid- Score	43
Tabelle 4	Zytologische Diagnostik: Münchener Nomenklatur	44
Tabelle 5	Häufigkeitsverteilung der untersuchten histologischen Diagnosen	45
Tabelle 6	Übersicht über das Alter der Patientinnen bei Diagnose-stellung	47
Tabelle 7	Relative Häufigkeit essigpositiver Reaktionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund	48
Tabelle 8	Farbreaktion essigpositiver Areale	49
Tabelle 9	Oberflächenbeschaffenheit essigpositiver Reaktionen	51
Tabelle 10	Randbegrenzung essigpositiver Areale	52
Tabelle 11	Relative Häufigkeit von Mosaikstrukturen abhängig vom histologischen Befund	53
Tabelle 12	Oberflächenbeschaffenheit bei Mosaikstrukturen in Abhängigkeit vom histologischen Befund	54
Tabelle 13	Relative Häufigkeit von Punktierungen abhängig von der histologischen Diagnose	55
Tabelle 14	Oberflächenbeschaffenheit bei Punktierungen	56
Tabelle 15	Übersicht über die Kombination von kolposkopischen Befunden „essigweißes Areal“, „Mosaik“ und „Punktierung“	57
Tabelle 16	Einschätzung des kolposkopischen Befundes durch den Untersucher	58
Tabelle 17	Einschätzung des Untersuchers im Vergleich mit dem histologischen Befund	59
Tabelle 18	Nachweis von HPV- Infektionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund	61
Tabelle 19	Differenzierung HPV- positiver Fälle in Einfach- und Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle	63
Tabelle 20	Infektionen mit humanen Papillomaviren bezogen auf die histologische Diagnose	63
Tabelle 21	Nachweisrate für HPV- Infektionen in unterschiedlichen Altersgruppen	65
Tabelle 22	Altersverteilung der HPV- Infektionen	66
Tabelle 23	Nachweisrate onkogener Transkripte abhängig von der histologischen Diagnose	67
Tabelle 24	Zytologie bei histologisch gesicherter Zervizitis	68
Tabelle 25	Kolposkopische Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis	68
Tabelle 26	Kolposkopische Beurteilung bei Kontaktblutungen	70
Tabelle 27	histologische Befunde bei Kontaktblutungen	70

Verzeichnis der Abbildungen

		Seite
Abbildung 1	Elektronenmikroskopische Aufnahme von Papillomaviren	3
Abbildung 2a	Essigsäureapplikation bei gesunder Portiooberfläche	25
Abbildung 2b	Essigsäureapplikation bei schwerer Dysplasie	25
Abbildung 3	unauffällige Reaktion nach Applikation von Schillerscher Jodlösung	26
Abbildung 4	auffällige Reaktion nach Applikation von Schillerscher Jodlösung	27
Abbildung 5	auffällige Transformationszone nach Essigsäure-applikation	28
Abbildung 6a,b	Kolposkopie: Mosaikstruktur	29
Abbildung 7	Zytologie: unauffälliger zytologischer Abstrich	30
Abbildung 8	Zytologie: Pap III D	31
Abbildung 9	Zytologie: Pap IVa	31
Abbildung 10	Zytologie: Pap V, Adeno- Karzinom	32
Abbildung 11	Histologie: Koilozyten	33
Abbildung 12	Histologie: CIN II	37
Abbildung 13	Essigpositive Reaktionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund	48
Abbildung 14	Histologische Befunde bei Farbreaktion nach Essigsäureapplikation	50
Abbildung 15	Nachweis von Mosaikstrukturen abhängig vom histo- logischem Befund	53
Abbildung 16	Nachweis von Punktierungen abhängig vom histologischem Befund	55
Abbildung 17	Beurteilung des Untersuchers	59
Abbildung 18	Nachweis von HPV-Infektionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund	61
Abbildung 19	Differenzierung der HPV- Infektionen in Einzel-, Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle	62
Abbildung 20	Übersicht über die Verteilung der HPV- Typen 16, 18 und 6/11	64
Abbildung 21	HPV- Infektionen in Abhängigkeit vom Alter	65

I. Einleitung

1. Epidemiologie des Zervixkarzinoms

Die Prävalenz für das Zervixkarzinom beträgt weltweit ca. 15,1 je 100000 Einwohner, das entspricht etwa 525000 Karzinomen der Cervix uteri (Pisani et al., 2002).

1999 war das Zervixkarzinom mit einer Mortalität von 2,6 je 100000 Einwohner unter den Todesursachen maligner Tumoren in Deutschland an elfter Stelle; bei der häufigsten Todesursache Brustkrebs waren es 19,7 je 100000 Einwohnerinnen (Becker, Wahrendorf, 1998). Dies kann als Zeichen des Erfolges des Früherkennungsprogramms für das Zervixkarzinom, das 1971 eingeführt wurde, angesehen werden. Der Altersgipfel der Sterbefälle liegt zwischen 70 und 74 Jahren (Scheuermann et al., 1997).

Die Inzidenz beträgt im Saarland 10,8 und in der ehemaligen DDR etwa 21,0 jeweils mit abnehmender Tendenz. Die geschätzte Zahl der pro Jahr auftretenden Neuerkrankungsfälle bewegt sich bei 7000 (Becker, Wahrendorf, 1998).

Die Inzidenz genitaler Präkanzerosen liegt vermutlich um das 100-fache höher (Schneider et al., 1998).

1.1. Ätiologie des Zervixkarzinoms

Erste Beobachtungen zu einer infektiösen Genese des Zervixkarzinoms wurden 1843 von Rigoni- Stern gemacht. Er fand einen statistischen Unterschied im Auftreten von Zervixkarzinomen zwischen Nonnen und Prostituierten. Auch frühe Aufnahme

sexueller Aktivität und schlechte hygienische Voraussetzungen schienen ein wichtiger Faktor zu sein (zur Hausen, 1985, a). Außerdem fand er eine geographische Korrelation zwischen dem Auftreten von Peniskarzinomen und Zervixkarzinomen.

So zeigte das Zervixkarzinom Zeichen einer sexuell übertragbaren Erkrankung und es wurde lange nach dem Erreger gesucht. Nachdem zunächst das Herpes simplex Virus als Ursache galt, wurde in vielen Studien die Antikörperproduktion gegen dieses Virus untersucht; dabei fand sich in den Daten eine große Variationsbreite.

Doch „der entscheidende Faktor, nämlich die Infektion mit bestimmten Papillomaviren, wurde erst in den 70er und 80er Jahren identifiziert und charakterisiert“ (L. Gissmann, 1998). Man hatte erkannt, daß Kondylome, die, wie schon zu dieser Zeit bekannt war, nachweislich Folge einer Infektion mit humanen Papillomaviren sind, maligne entarten können (zur Hausen, 1985 a); des weiteren gab es Karzinomzellen, in denen sich das Herpes simplex Virus nicht nachweisen ließ.

Kovi und Mitarbeiter fanden im histologischen Schnitt von auffälligen Gewebestrukturen von 3 Patienten, die sich wegen warzenartiger Veränderungen vorgestellt hatten, neben den typischen Zeichen für Kondylome auch karzinomatös entartete Strukturen. Er fand bei den Patienten ein Carcinoma in situ und ein mikroinvasives Karzinom der Cervix uteri und bei einem Patienten ein invasives Plattenepithelkarzinom des Penis (Kovi et al., 1973).

Damit konnte ein Zusammenhang zwischen den kondylomatösen Veränderungen und dem Auftreten eines Karzinoms hergestellt werden.

2. Papillomaviren

Das Papillomavirus wird zu den DNA- Viren gezählt. Es handelt sich um ein hüllenloses Virus von 55 nm Größe. Das ca. 8 Kilobasen große Genom liegt als doppelsträngige ringförmige Nukleinsäure in einem ikosaedrischen Kapsid vor (de Villiers, 1989; zur Hausen, 1985).

Papillomaviren lassen sich nicht in Zellkulturen vermehren. So entgingen sie sehr lange der Nachweismöglichkeit und erst neuere, sensitive Methoden der Molekularbiologie machen den Nachweis möglich. Papillomaviren sind speziesspezifisch; sie werden in tierpathogene und humanpathogene Papillomaviren unterteilt.

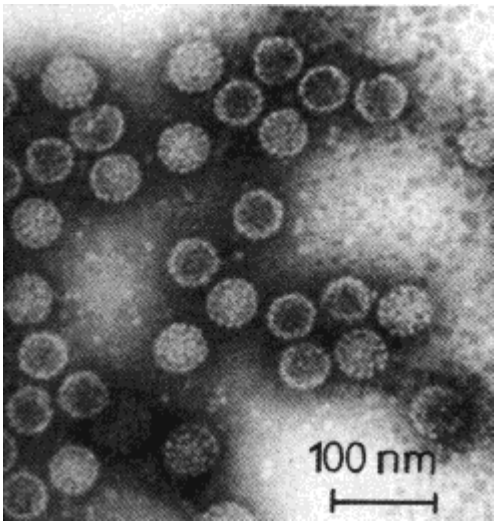


Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Papillomaviren: charakteristische Ikosaeder-Struktur
Quelle: H. Gelderblom, RKI aus de Villiers, (1997)

2.1. Tierpathogene Papillomaviren

2.1.1. Shope- Papillomavirus

Papillomaviren sind in der Tierwelt weit verbreitet. Shope hatte herausgefunden, daß dieses Virus, dem er seinen Namen gab, bei Kaninchen Papillome hervorruft, die maligne entarten können (Shope, 1933). Bei seinem natürlichen Wirt, dem amerikanischen Wildkaninchen, entwickeln sich in 25 % der Fälle Malignome, bei den domestizierten ist das Risiko drei mal so hoch (Rous, Beard, 1934; Chang, 1990).

Werden die durch das Shope- Virus hervorgerufenen Papillome zusätzlich mit Teer oder Methylcholanthrene behandelt, entwickeln sich in kürzerer Zeit Karzinome (Rous, Friedewald, 1944).

Zuerst wurde beim amerikanischen Wildkaninchen entdeckt, daß Papillomaviren in den Prozeß der Malignisierung verwickelt sind, mittlerweile ist der Nachweis auch bei anderen Virustypen und Tieren gelungen. Die Virusinfektion allein reicht für die Entstehung eines Karzinoms aus, weitere Faktoren erhöhen die Rate der Malignisierung.

2.1.2. Bovines Papillomavirus, BPV

In Schottland wurde die Infektion von Viehherden mit dem cattle bovine papillomavirus untersucht, besonders des BPV 4 (Bovine Papillomavirus Typ 4). Sind die Tiere damit infiziert, entstehen Papillome im Verdauungskanal. Diese Papillome können zu Adenokarzinomen des unteren Verdauungskanals entarten, wenn

die Tiere in farnbewachsenen Gegenden weiden. Dieser Farn enthält das Karzinogen Querzetin und das Immunsuppressivum Azathioprin. Diese Substanzen schwächen das Immunsystem und erhöhen damit die Wahrscheinlichkeit einer malignen Entartung.
Auch hier wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Experimentelle Infektionen mit BPV 4 und anschließend Farndiät oder Behandlung mit Azathioprin führen zum Auftreten von Karzinomen. Im schottischen Hochland ist die Inzidenz von Malignomen des Verdauungskanals 2- 5 %. Bei 96% der Tiere, die Karzinome entwickelt haben, lassen sich Papillome nachweisen (Chang, 1990).
Bei Schafen und Rindern entwickeln sich aus Papillomen im Augenbereich nur unter der intensiven Sonne Australiens Karzinome.

Wichtig ist die Erkenntnis, daß sich bei Infektionen mit Papillomaviren zunächst gutartige Wucherungen bilden und erst der Synergismus mit der Umwelt und damit der Einfluß unterschiedlicher Noxen die Malignisierung ermöglicht oder beschleunigt (zur Hausen, 1985).

2.2. Humanpathogene Papillomaviren, HPV

Infektionen mit humanpathogenen Papillomaviren verursachen gutartige Veränderungen der Haut und Schleimhaut; ähnliche Läsionen können durch unterschiedliche Virustypen hervorgerufen werden. Die unterschiedlichen Typen befallen bevorzugt bestimmte Regionen des Körpers (de Villiers, 1989; Hahn et al., 1994).

Gissmann und zur Hausen gelang 1980 die Isolierung von Papillomavirus- DNA aus einem Kondylom, das dann als HPV- Typ6 bezeichnet wurde (Gissmann, zur Hausen, 1980).
Heute sind über 100 Typen identifiziert (Kirwan, Herrington, 2001).

Lokalisation	Erscheinungsbild	HPV- Typen
Haut	Verrucae plantares, vulgares, planae	1, 2, 3, 4, 10, 28, 29
	Epidermodysplasia verruciformis	5, 8, 9, 17, 19- 29, 47, 50
Schleim-haut	Papillome an Larynx und Mundschleimhaut	6, 11, 32
	Larynx-, Mundhöhlenkarzinom	16, 18, 31, 33, 35
Anogenital-bereich	Condylomata acuminata	6, 11, 42, 44, 54
	Bowenoide Papulose	16, 55
	Cervikale intraepitheliale Neoplasie	6; 11, 16, 18, 30, 31, 33, 34, 35, 39- 45, 51, 52, 56, 57, 58
	M. Bowen, Penis -, Anuskarzinom	33, 34, 35
	Zervixkarzinom	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52

Tabelle 1: HPV- Typen und deren typischerweise verursachten Erscheinungen (nach de Villiers,1989)

2.2.1. Das Genom der Papillomaviren

Das Genom der Humanen Papillomaviren enthält offene Leseraster (open reading frames, ORF); es finden sich keine Stopcodons in der DNA- Sequenz und so können aus einem Gen mehrere unterschiedliche Genprodukte entstehen, abhängig von welchem Punkt aus die DNA abgelesen wird. Auf diese Weise ist es dem Virus möglich, sehr viel genetische Information auf einem kleinen Genom zu speichern. Das Genom der Papillomaviren läßt sich in drei Anteile unterschiedlicher Funktion unterteilen: upstream-

regulatory- region (URR), early region (E) und late region (L). Early und Late- Region beschreibt dabei, ob die Gene zu denen gehören, die früh (E- Region, E steht dabei für early) oder eher spät (L steht für late) im Zellzyklus transkribiert werden.

2.2.1.1. URR: upstream regulatory region

Diese auch LCR, long control region oder NCR, non coding region genannte Region, umfaßt ca. 15 % des viralen Genoms (Chang, 1990). Sie kodiert nicht für Proteine, sondern die Hauptfunktion besteht in Regulation der viralen Replikation und Transkription der Sequenzen der E- Region: sie ist eine Regulatorregion mit vielen Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren (Richart, 1997). Die URR- Region ist von großer Wichtigkeit für die Virusreplikation, weil sie die Transkription der viralen Gene kontrolliert.

2.2.1.2. Übersicht über die Funktion der HPV- Gene der E-Region

Die E- Region macht ca. 45% des viralen Genoms aus (Chang, 1990). Die Gene der E- Region kodieren für Nicht- Strukturproteine. Sie kodieren für Proteine, die wichtig sind im frühen Replikationszyklus des Virus. Sie interagieren mit dem zellulären Genom der Wirtszelle, um dieses zu programmieren, neue virale DNA zu produzieren. Die Gene der E- Region sind für die onkogene Wirkung des Virus wichtig, weil sie für Gene kodieren, deren Transkription onkogene Proteine produziert; diese bewirken die Transformation normaler Zellen der Zervix in neoplastische. Die

Gene bewirken die Erhaltung eine großen Menge intrazellulären Virusmaterials (Richart, 1997). Man unterscheidet heute die E-Gene E1, E2, E4, E5, E6, E7 und E8; diese haben jeweils verschiedene Funktionen.

2.2.1.2.1.Übersicht über die Funktion der Gene E1/ E2/ E4/ E5/ E8

Das E1- Protein bestimmter HPV- Typen hat ATP- ase und Helikase- Eigenschaften (Milde- Langosch et al., 1999). Die ATP-ase liefert durch Spaltung von Adenosintriphosphat Energie. Die Helikase bewirkt die Auftrennung der vedrillten DNA- Doppelhelix in zwei Stränge.

Das E2- Gen kodiert für zwei Bindungsproteine, die an der Regulation der Transkription anderer ORFs der E- Region beteiligt sind. Die Genprodukte binden an spezifische DNA- Sequenzen in der URR (upstream- regulatory region) (Richart, 1997).

Wird die gesamte E2- Region transkribiert, entsteht das Produkt E2-TA- Es wirkt als Aktivator oder als Repressor abhängig von der Bindung an einen bestimmten Promoter (Moskaluk, Bastia, 1988).

Das E2- Gen hat eine wichtige Funktion bei der onkogenen Wirkung der Papillomaviren. Ein bedeutender Schritt in der Karzinogenese ist die Integration des viralen Genoms in das Genom der Wirtszelle. Bei der Integration muß die zirkuläre Virus-DNA an einer Stelle aufgetrennt werden. Dies geschieht meist in der E2- Region. Dieser Vorgang geht mit einem Verlust der Funktion dieses Gens einher. Dessen Hauptwirkung, die Hemmung des Zellzyklus und damit des Wachstums der Zellen, geht verloren. Fehlt dieses Produkt, kann es nicht als Suppressor wirken und es kommt zum ungehinderten

Zellwachstum; daraus resultiert eine hohe E6 und E7-Genexpression (Dürst et al., 1985).

Das E4 Gen kodiert für einige Proteine, die in der Regulation der viralen Replikation und der Virusreifung ihre Funktion haben. Sie verändern das Zytoskelett in infizierten Zellen und ermöglichen das Freilassen viraler Partikel (Richart,1997). Das E4 Protein induziert den Kollaps des Zytokeratin- Netzwerks, die Grundlage des charakteristischen zytopathischen Effekts der HPV- infizierten Zelle (Milde- Langosch,1999). E4- Proteine sind in basalen Zellschichten noch nicht exprimiert (Crum et al.,1990).

Das E5 Gen kodiert für ein Protein mit schwacher transformierender Aktivität. In vitro konnte nachgewiesen werden, daß das E5 Protein in der Lage ist, normale Zellen zu neoplastischen zu transformieren (Richart, 1997). E5 scheint im frühen Stadium der Infektion sehr wichtig zu sein. Durch Bildung eines Komplexes mit dem Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor EGF wird das Zellwachstum angeregt (zur Hausen, 2002).

Han und Mitarbeiter transfizierten E5 und E8 Gene in zwei verschiedene Zelllinien. Im Vergleich mit den Kontrollzellen waren die E5 und E8 positiven Zellen kleiner und von spindelförmiger Gestalt; die Zellen hatten die Kontaktinhibition verloren. In einem weiteren Versuch konnte auch nachgewiesen werden, daß sich in der Zellkultur der E5 und E8 infizierten Zellen mehr Zellen in der S-Phase des Zellzyklus befanden als in den Zellen der Kontrollkulturen (Han et al., 1998).

2.2.1.2.2.Übersicht über die Funktion der HPV- Gene E6 und E7

E6 und E7 spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren.

Die Genprodukte von E6 und E7 sind hochonkogene Proteine, die in der Lage sind, normale Zellen in neoplastische zu transformieren (Richart, 1997).

Tumorsuppressorgene spielen eine wichtige Funktion im Zellzyklus. Durch die Produkte der Tumorsuppressorgene p53 und Rb werden ruhende Zellen daran gehindert, in die S- Phase des Zellzyklus einzutreten. Dies ist nach potentiellen Schädigungen, beispielsweise durch Bestrahlung, der Fall; den Zellen soll Zeit gegeben werden, sicherzustellen, daß Fehler entdeckt und repariert werden, bevor die Zellen diesen Genomdefekt an die Tochterzellen weitergeben.

Die viralen Gene E6 und E7 greifen in diesen Mechanismus folgendermaßen ein: E6 tritt mit p53 in Wechselwirkung und bewirkt dessen Degradation; in HPV-16 transformierten Zellen lassen sich niedrige Level von p53 nachweisen, E6 erleichtert die Degradation und bewirkt so einen Wirkverlust dieses Tumorsuppressorgens (Werness, 1990). E7 tritt in Wechselwirkung mit dem Rb- Gen und bewirkt damit dessen funktionelle Inaktivierung. In den meisten menschlichen Tumoren finden sich Mutationen im Tumor-suppressorgen p53, dies ist beim Zervixkarzinom nur selten der Fall. Die Genprodukte von E6 und E7 haben wahrscheinlich eine wichtige Funktion darin, die differenzierten Zellen, die eigentlich nicht mehr zur Teilung befähigt sind, wieder in die S- Phase des Zellzyklus zurückzuführen. Mit der Zellteilung kann auch die virale DNA vermehrt werden. Dadurch, daß das Tumorsuppressorgen p53 inaktiviert wurde, werden DNA- Schäden nicht entdeckt. Die

Mutationen kumulieren und schließlich kann es zum Entstehen eines malignen Zellklons kommen.
Die meisten der HPV- positiven Karzinombiopsien und alle HPV-positiven Zelllinien, die aus Zervixkarzinomen kultiviert wurden, enthalten die viralen Transkripte E6 und E7 des jeweiligen Virustyps (zur Hausen, 1991).
Havre et al. untersuchten an einer mit high risk E6 transfizierten Kolon- Karzinom- Zelllinie die Wirkung von Bestrahlung mit UV-Licht auf die Mutationsrate in diesen Zellen. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß die mit E6 transfizierten Zellen mehr Mutationen aufwiesen als die nicht transfizierten Zellen. Auch die Spontanmutationsrate in diesen Zellen ist erhöht; sie ist bei mit low-risk E6 transfizierten Zellen höher als bei mit high- risk E7 transfizierten; somit ist die durch E6 hervorgerufene p53 Inaktivierung und nicht die Inaktivierung des Retinoblastomgens an der mutagenen Wirkung beteiligt (Havre et al., 1995).
Shnitman Magal et al. untersuchten das Verhalten von Keratinozyten nach UV- Bestrahlung. HPV16 E6 und E7 transfizierte Zellen zeigten im Vergleich zu nicht transfizierten reduzierte Apoptoseraten. E6/E7 verhindert den Wachstumsstopp in der G1-Phase nach DNA- Schädigung, damit kommt es zu einer Anhäufung genetischer Alterationen (Shnitman Magal et al., 1998).
Watanabe et al. untersuchten die Wirkung der Genprodukte des HPV-Virus Typ 16 auf ihre Fähigkeit zur Transformation von menschlichen embryonalen Fibroblasten (Watanabe et al., 1989). Die Arbeitsgruppe untersuchte die unterschiedliche Funktion der Gene E1, E2E4E5, E5, E6, E6E7 und E7. 50 Tage nach Transfektion der Zellen waren nur noch die Zellen, die mit E6/E7

transformiert worden waren, in Zellkultur zu halten. Auch morphologisch zeigten sich Unterschiede zwischen nicht transformierten und transformierten Zellen. Transformierte Zellen erschienen kleiner und dicker und die Zelldichte im Kulturmedium war geringer (Watanabe et al., 1989).

Das Genprodukt von E6 der HPV- Typen 6 und 11 hat eine 20 bzw. 5- fach geringere Affinität zu p53 als das der Typen 16 oder 18 (Werness et al., 1990).

Die Expression der viralen Onkogene E6 und E7 ist für das Beibehalten des malignen Wachstums durch Ausschalten der Tumorsuppressorgene p53 und Rb erforderlich (zur Hausen, 2002).

2.2.1.3. Die Funktion der HPV- Gene der L- Region

Die L- Region macht ca. 40% des viralen Genoms aus (Chang, 1990). Die Gene kodieren für die viralen Kapsidproteine, die die DNA umgeben: so entsteht das infektiöse Virus. Diese Region ist offensichtlich entscheidend für die Produktion des infektiösen Virus, dennoch läßt sich in der Mehrzahl der Karzinome kein Protein dieser Region nachweisen. Die Rolle im transformierenden Prozeß ist noch nicht bekannt. Die Region besteht aus den Open- Reading- Frames für die Gene L1 und L2 (Wright et al., 1990).

Die L1- Region kodiert für das große Kapsidprotein; es ist unter allen Papillomavirustypen hoch konserviert. Gegen dieses Protein reagieren die kommerziell zu erwerbenden anti- HPV- Kapsid-Antikörper.

Die L2- Region kodiert für das kleine Kapsidprotein; dieses ist bei den einzelnen Papillomavirustypen sehr verschieden.

2.2.2. Prävalenz von Infektionen mit humanen Papillomaviren

Bei jungen, sexuell aktiven Frauen ist die Infektion mit humanen Papillomaviren die häufigste sexuell übertragene Erkrankung (Einstein, Burk, 2001).

Koilozyten im zytologischen Abstrich und im histologischen Schnitt gelten als typisches Zeichen einer Infektion mit humanen Papillomaviren, ebenso wie bei der kolposkopischen Untersuchung nachgewiesene essigweiße und jodnegative Areale. Diese Erscheinungen werden auch als „HPV- Effekt“ bezeichnet (Blackledge and Russel, 1998).

Eine prospektive Studie mit 224 Patientinnen zeigte eine Prävalenz dieses HPV- Effekts von 68% bei asymptomatischen Frauen, die jünger als 30 Jahre waren. In der Altersgruppe der 20- 30 Jährigen fanden sich die höchsten Infektionsraten und insgesamt ist die Altersverteilung bei HPV- Infektionen der bei typischen sexuell übertragbaren Erkrankungen wie Gonokokken- und Chlamydieninfektionen sehr ähnlich; dies unterstützt die Theorie der sexuellen Übertragbarkeit auch der Infektion mit humanen Papillomaviren (Blackledge, Russel, 1998).

De Villiers et al. führten an 11667 Frauen eine große Studie durch, um den Verlauf bei bekanntem zytologischen Befund und positivem HPV- Nachweis zu untersuchen. Bei 10778 zytologisch unauffälligen Befunden konnte bei 9% HPV- DNA nachgewiesen werden (de Villiers et al., 1992).

Als Risikofaktor für die Persistenz der Infektion mit humanen Papillomaviren gelten höheres Alter, Infektionen mit high- risk Typen

und Infektionen mit gleichzeitig mehreren HPV- Typen (Kirwan, Herrington, 2001).

Die Persistenz der HPV- Infektion ist eine Voraussetzung für ein Fortschreiten der Erkrankung. Etwa 70% der HPV- assoziierten genitalen und zervikalen Läsionen verschwinden innerhalb von 10 Jahren; kommt es zu einem Progress der Erkrankung, dann zeigt sich dieser üblicherweise innerhalb der ersten 48 Monate nach erster Diagnose einer HPV- Infektion. Wichtige Faktoren für die Viruspersistenz sind höhergradige zytologische und histologische Veränderungen, Nachweis der HPV- Typen 16 und 18, und hohe Viruslast (Syrjänen, 1998).

Bei einer weiteren großen zytologischen Studie fanden de Villiers und Mitarbeiter signifikante Unterschiede: Zytologische Abstriche von 9295 Patientinnen wurden mit Hilfe einer Fluoreszenz- In- Situ-Hybridisierung (FISH) auf die Anwesenheit von Papillomaviren der Typen 6/11, 16, 18 untersucht. Bei 8755 unauffälligen zytologischen Abstrichen ließen sich in 9% HPV- Infektionen nachweisen, bei zytologisch auffälligen in 35- 40%. Bei den 15- 50jährigen fanden sich bei 10- 13 % HPV- Infektionen, bei den über 50-jährigen in 2-5%. Mögliche Ursachen für diese Tatsache könnten geringe Reinfektionsraten der älteren Studienteilnehmerinnen sein oder hormonale Veränderungen; die höchste Nachweisrate fand sich auch in dieser Untersuchung in der Altersgruppe der 20- 30 Jährigen. Zu beachten ist bei diesen eher niedrigen Zahlen die Nachweistechnik, denn die Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) ist eher wenig sensitiv; es wurden nur die HPV- Typen 6/11, 16 und 18 untersucht. Die hohe Prävalenz von HPV- Infektionen in unauffälligen Abstrichen unterstützt die Theorie, daß die Infektion

nicht der einzige Faktor für eine Transformation der Zelle ist, sondern daß weitere Faktoren nötig sind (de Villiers et al., 1987).

2.2.3. Prävalenz von HPV- Infektionen bei Schwangeren

Schneider und Mitarbeiter untersuchten die HPV- Prävalenz bei Schwangeren im Vergleich zu Nichtschwangeren und stellten eine signifikant höhere Nachweisrate von Papillomaviren bei Schwangeren fest; außerdem hatten Schwangere größere Mengen an viraler DNA im zytologischen Abstrich: es ließ sich eine bis 10-fach höhere Menge nachweisen. Bei der Typisierung zeigten sich große Unterschiede nur beim HPV- Typ 16: 42,3 % der HPV-positiven Abstriche von Schwangeren enthielten HPV- Typ 16, im Gegensatz zu nur 25% der Abstriche bei Nichtschwangeren. 28% der Schwangeren waren zum Zeitpunkt der Untersuchung HPV-infiziert, 12,5 % der Nichtschwangeren.
Eine Schwangerschaft scheint ein Risiko für eine HPV- Infektion darzustellen oder führt zu einer höheren Replikationsrate einer bestehenden Infektion (Schneider et al., 1987).

2.2.4. Inzidenz von Infektionen mit humanen Papillomaviren

In einer prospektiven Untersuchung von 608 jungen Frauen wurden über 3 Jahre die Anzahl an Neuinfektionen und die Dauer einer Infektion in Abhängigkeit vom HPV- Typ untersucht. Die durchschnittliche jährliche Inzidenz wurde mit 14 % angegeben; 60% der Teilnehmerinnen waren im Verlauf HPV- positiv. Ältere Patientinnen hatten ein geringeres Risiko für Neuinfektionen,

wahrscheinlich auf Grund früher erworbener Immunität. Ein höheres Risiko für eine Infektion bestand bei jungen Patientinnen und bei jenen, die viele Partner hatten. Genitale Infektionen mit humanen Papillomaviren gehören zu den am häufigsten sexuell übertragenen Erkrankungen (Ho et al., 1998).

2.3. Verlauf der Infektion mit humanen Papillomaviren

Das Virus befällt basale Keratinozyten. Hier werden nur frühe Gene des Virus exprimiert. Die Keratinozyten proliferieren und wandern innerhalb von 3 Wochen von der Basalzellschicht an die Oberfläche und mit ihnen das Virus. Erst wenn die Zelle in einem fortgeschrittenem Stadium der Differenzierung ist, kann das Virus repliziert werden. Es läßt sich ein starker Anstieg von Virusproteinen nachweisen (Stanley, 1998).

Bei einer von Londesborough et al. durchgeführten Untersuchung des Verlaufs bei kontrollierten aber unbehandelten Befunden zeigten von 12 Patientinnen mit leichtgradigen Läsionen 3 Frauen eine Persistenz des gleichen Virustyps. Innerhalb von 2 Jahren entwickelte eine Patientin eine mit HPV-16 assoziierte schwergradige Läsion, und bei je einer Patientin, bei denen der HPV- Typ 31 isoliert werden konnte, wurde eine leicht- bzw. eine mittelgradige Läsion diagnostiziert. Bei 38 Minimalläsionen konnten bei 12 persistierende Infektionen nachgewiesen werden; 3 Patientinnen enwickelten HPV-16 assoziierte schwergradige Läsionen; bei 3 Patientinnen konnte im Verlauf eine leichtgradige Läsion diagnostiziert werden, 2 waren positiv für HPV-16, eine für HPV-31 (Londesborough et al., 1996).

De Villiers et al. untersuchten über einen Zeitraum von 5 Jahren den Verlauf der zytologischen Befunde sowie der Entwicklung bei bekanntem HPV- Befund. Bei 19 von 11667 Patientinnen (0,7%), bei denen bei der ersten Untersuchung ein unauffälliger zytologischer Befund diagnostiziert wurde, entwickelte sich innerhalb von 5 Jahren eine schwergradige Läsion oder ein invasives Karzinom; bei 12 von ihnen (63%) ließ sich HPV- DNA nachweisen. Man könnte davon ausgehen, daß mindestens 2,9- 3,7% der HPV- infizierten Frauen im weiteren Verlauf eine schwergradige Läsion oder ein Zervixkarzinom entwickeln werden. Auch diese Tatsache unterstützt die These, daß eine Infektion allein nicht ausreicht, sondern weitere Modifikationen notwendig sind (de Villiers, 1992).
47% der Dysplasien, die im Verlauf einen Progress der Erkrankung zeigten, waren HPV- 16 positiv, 58% der Befunde, die sich zurückbildeten, waren negativ (Konno et al., 1998).

2.3.1.Humane Papillomaviren- „High Risk“/ „Low risk“

Die Infektion mit manchen Papillomavirustypen, z.B. Typ 16, Typ 18, geht mit einem hohen Risiko einer malignen Konversion einher, andere Typen lassen sich selten in invasiven Karzinomen nachweisen, diese werden daher auch als „low-risk“ Typen bezeichnet, die anderen als „high-risk“.
Zu Beginn der Ära der PCR ließ sich bei fast 90% der Karzinome virale DNA der high-risk Viren nachweisen; die meisten Tumoren enthalten integrierte DNA“ (zur Hausen, 1991). Heute konnte gezeigt werden, daß in 95- 100 % der Zervixkarzinome HPV- DNA nachgewiesen werden kann (Bosch, De Sanjose, 2003).

Reid et al. konnten nachweisen, daß mit zunehmendem histologischen Schweregrad die Nachweisrate von high-risk HPV-Typen signifikant ansteigt; während bei CIN I 79% high- risk positiv waren, waren es bei Patientinnen mit CIN III 94 %. Der größte Anteil an high- risk Infektionen ist durch den HPV- Typ 16 verursacht (Reid et al., 1987).

Hellberg et al. untersuchten über einen Zeitraum von 10 Jahren den Verlauf von Läsionen der Cervix uteri abhängig von Infektionen mit humanen Papillomaviren. 70% der CIN III waren HPV-16 positiv, aber nur in 50% der CIN I und leichtgradigeren Veränderungen konnte HPV- DNA nachgewiesen werden. HPV- 16 positive Läsionen zeigten bei 53% der Patientinnen eine Progressionstendenz, HPV-33 positive bei 85%. Dagegen konnte bei 75% der HPV-6/11 positiven eine Regression der Veränderungen nachgewiesen werden (Hellberg et al., 1993).

2.3.1.1. Status der HPV 16 DNA in präneoplastischen und neoplastischen Läsionen

Das et al. untersuchten, ob die HPV -16 DNA in präneoplastischen und neoplastischen Veränderungen in das Wirtsgenom integriert ist oder nicht. Die Unterscheidung zwischen episomaler und integrierter DNA erfolgte durch Nachweis eines E2 spezifischen Fragmentes, fehlender Nachweis des E2 Genabschnittes ist mit Integration der Virus- DNA gleichzusetzen (Das et al., 1992). Daniel et al. konnten zeigen, daß in 19 von 22 Zervixkarzinomen und in 7 von 7 CIN III das E2- Gen nicht nachweisbar ist, aber in allen entzündlichen Läsionen (N= 41) (Daniel et al., 1995). Die Integration der HPV- 16

DNA ins Wirtsgenom erscheint vor einem histopathologischen Bild einer Invasion.

2.3.1.2. Verlauf der Infektion mit Papillomaviren an der Portio

Kleinste Schleimhautverletzungen und die besonders anfällige Transformationszone bilden die Eintrittspforte für die Papillomaviren. Die Viren befallen die basale Zellschicht der Epidermis oder der Mukosa. Nachdem das Virus in die Zelle gelangt ist und durch uncoating das virale Genom frei in der Zelle vorliegt, wandert das Genom in den Kern der Wirtszelle. Hier findet die Transkription der viralen Gene statt. Das virale Genom wird nicht in die Wirts- DNA integriert, sondern bleibt als Episom. Solange in den basalen Zellschichten die Replikation der Virus- DNA nur gleichzeitig mit der Replikation der Wirtszell- DNA stattfindet, zeigen sich im histologischen Schnitt keine morphologischen Veränderungen (latente Infektion). Die frühe produktive Aktivität des Virus hat stimulierende Wirkung auf das Wachstum der Zelle. So entstehen die typischen Papillome. Papillomavirusinfektionen hindern die Zellen nicht an ihrer Ausreifung, obwohl das histologische Bild einer infizierten Zelle sehr auffällig erscheint: Zellen mit einem perinukleären Halo.

In höheren Epithelschichten findet eine erhöhte Virusreplikation statt. Eine sich noch differenzierende Zelle verhindert über einen bisher ungeklärten Mechanismus die unabhängige Vermehrung der Viren. Erst nach Ausdifferenzierung der Zellen kann die unabhängige Virusreplikation beginnen. Die Reifung der Viruspartikel erfolgt erst in ausgereiften Zellen (zur Hausen, 1985).

Koutsky et al. untersuchten prospektiv bei 241 Patientinnen die Inzidenz einer CIN und die Prävalenz von HPV- Infektionen sowie den Einfluß einer Infektion auf die Entwicklung einer Dysplasie. Bei den Patientinnen, die bei der ersten Untersuchung einen positiven HPV- Nachweis hatten, entwickelte sich innerhalb von 2 Jahren bei 28% eine mittlere oder schwere Dysplasie, aber nur bei 3%, wenn weder bei der ersten Untersuchung noch in einer der folgenden ein positiver HPV- Befund nachweisbar war (Koutsky et al., 1992).
In einer prospektiven Untersuchung bei 35 Patientinnen mit CIN II zeigten 75% der Fälle, die mit HPV- 16 assoziiert waren, im beobachteten Zeitraum von 2 Jahren eine behandlungsbedürftige Progression der Erkrankung. Im Kontrast dazu konnte bei 50% der Fälle, die negativ oder mit anderen Typen infiziert waren eine Regression, zumindest aber eine Persistenz des Befundes nachgewiesen werden. Insgesamt ist die Virusverteilung bei CIN II, CIN III und den invasiven Karzinomen ähnlich, was die Theorie, daß dies unterschiedliche Stufen auf dem Weg zur Malignisierung sind, unterstützt (Fuchs et al., 1988).

2.4. Nachweis von Papillomaviren- mittels der Polymerase-Kettenreaktion/ PCR

Die Polymerase- Kettenreaktion ermöglicht den Nachweis geringster Mengen an Nukleinsäure, sofern die Sequenz der gesuchten Nukleinsäure bekannt ist. Man benötigt Primer, Nukleotid-Triphosphate und eine hitzestabile DNA- Polymerase.
Primer sind bis 20 Basen lange Oligonukleotide, die komplementär sind zu den Abschnitten in der DNA, die vervielfältigt werden sollen. Die DNA - Polymerase muß hitzestabil sein, weil man im Verlauf der

PCR mehrere Male auf über 90° Celsius erhitzt und sonst nach jedem PCR- Zyklus erneut Polymerase zugegeben werden müßte. Diese hitzestabile Polymerase wurde in Thermus aquaticus, einem Bakterium, das man in den heißen Quellen des Yellowstone-Nationalparks gefunden hat, entdeckt. Diese auch Taq- DNA - Polymerase genannte Polymerase wird heute gentechnisch hergestellt und sie ist die am häufigsten für die PCR verwendete Polymerase.

2.4.1. Technik der PCR

Im Material vorliegende DNA wird durch Hitzedenaturierung bei Temperaturen zwischen 93° und 100° C in zwei Einzelstränge gespalten. Langsam läßt man die Reaktionslösung wieder abkühlen. Die Primer lagern sich bei einer Temperatur zwischen 37° und 65°C an die denaturierten DNA- Ketten. Langsam erhöht man nun wieder die Temperatur. Bei ca. 72° C verlängert die Taq- Polymerase ausgehend von den Primern die noch einzelsträngige Nukleinsäurekette. Diese drei Reaktionsschritte DNA-Denaturierung, Primeranlagerung und DNA- Polymerase bilden einen PCR- Zyklus. Nach einem solchen Zyklus hat sich theoretisch die Menge an DNA verdoppelt. Um eine für die Diagnostik ausreichende Menge zu erhalten, führt man gewöhnlich 20 und mehr Zyklen durch.

Die bei der Vervielfältigung verwendeten Primer werden als Konsensusprimer bezeichnet. Konsensusprimer binden an bestimmte Sequenzen in der L1- Region des viralen Genoms an. Die L1- Region weist bei allen genitalen HPV- Typen starke

Homologien auf. Konsensusprimer werden eingesetzt um möglichst ohne viel Aufwand viele HPV- Genotypen auf einmal zu vervielfältigen. So kann man mit einem Konsensusprimer viele Infektionen verschiedener HPV- Typen nachweisen.
Weit verbreitet in der HPV- Diagnostik ist das Konsensusprimerpaar GP5/GP6.
Dieses Primer Paar GP5/GP6 wurde ursprünglich hergestellt auf der Basis von DNA- Sequenzvergleichen der L1- Region der HPV-Typen 6, 11, 16, 18, 31 und 33. Der Konsensusprimer GP5/GP6 ist ein sogenannter nicht degenerierter Primer. Er besteht aus einer definierten Nukleotidsequenz und die Möglichkeit damit viele verschiedene HPV- Typen zu amplifizieren wird durch niedrigstringente Reaktionsbedingungen erreicht. Stringenz bezeichnet dabei die Reaktionsbedingungen, die die Spezifität der Anlagerung zweier Nukleinsäureketten beeinflussen. Durch höhere Temperaturen während der Amplifikation wird eine höhere Stringenz und damit eine höhere Spezifität aber gleichzeitig eine niedrigere Sensitivität erreicht. Hohe Stringenz bedeutet hohe Spezifität. Unter niedrigstringente Reaktionsbedingungen kann man mindestens 26 schleimhauttropische HPV- Typen nachweisen (Schneider et al. 1998). Niedrigstringente Bedingungen erlauben die Amplifikation auch dann, wenn mehrere Mismatches vorliegen.
Es finden sich aber häufig nach Amplifikation nur schwache Signale auf dem Gel. Nun ist zu klären, ob die schwachen Signale Kreuzreaktionen mit zellulären Sequenzen sind oder ob hier HPV-Typen mit einem sehr hohen Anteil an Mismatches amplifiziert wurden. Längere Primer bewirken eine effizientere Amplifikation,

vermutlich weil eine größere Stabilität im Primer- Ziel-DNA- Komplex erreicht wird (Mack, Sninsky, 1988).
Eine niederländische Arbeitsgruppe untersuchte, inwieweit eine Verlängerung der bekannten General Primer GP5/GP6 die Sensitivität beim Nachweis von HPV- Infektionen erhöhen kann. Bei 23 schleimhauttropen HPV- Typen wurde ein Sequenzvergleich am 3´- Ende des GP5- Produkt durchgeführt. Dabei zeigten sich am Ende bei jedem untersuchten HPV- Typ die gleiche Aminosäuresequenz. Man verlängerte den General Primer GP5 um 3 Nukleotide. Auch beim General Primer GP6 wurden entsprechende Untersuchungen durchgeführt; dieser Primer wurde schließlich um 5 Nukleotide verlängert. Beim Vergleich der alten und neuen Primer fand man beim Nachweis von HPV-16 eine 10 mal höhere Sensitivität, beim HPV-39 sogar eine mehr als 100- fache Sensitivität. Bei einer Untersuchung an Abstrichen fand man heraus, dass man mit den verlängerten Primern einen verbesserten Nachweis führen kann, aber nicht viele neue Typen findet. GP 5+/ GP6+ erleichtern die Differenzierung, sie erhöhen aber den Nachweis positiver Fälle nur in geringem Maße (De Roda Husman et al., 1995).

3. Kolposkopie

Die Kolposkopie wurde von Professor Hinselmann entwickelt. “Ausgehend von den Bedürfnissen der Frühdiagnose und der Ätiologie des Portiokarzinoms war ich bestrebt, die Besichtigung der Portio zu verbessern“. Zunächst nutzte er eine Stirnlampe, die zusätzliches Licht und zudem eine 1,8- fache Vergrößerung lieferte.

Kurz darauf entwickelte er aus einer binokularen Präparierlupe, die er mit einer Beleuchtung versehen ließ, ein Instrument, das ihm bis 30- fache Vergrößerungen erlaubte und es dadurch möglich machte, kleinste Veränderungen an Epitheloberfläche und Gefäßstrukturen zu entdecken. Das Kolposkop war erfunden; stellvertretend für alle jetzt einsehbaren Gebiete wählte er diesen Begriff (Hinselmann, 1925).

Von diesem Zeitpunkt an wurden verdächtige oder auffällige Befunde biopsiert und damit war der Grundstein gelegt für den heute gebräuchlichen Begriff der cervikalen intraepithelialen Neoplasie (Maclean,1979). Hinselmann war bestrebt, weitere Möglichkeiten zu finden, die die kolposkopische Diagnostik erleichtern sollten.

3.1. Hilfsmittel bei der kolpoksopischen Untersuchung

Hinselmann begann, verschiedene Flüssigkeiten auf ihre Wirkung auf das Epithel der Portio zu untersuchen.

3.1.1. Essigprobe

Zunächst tupfte Hinselmann den Schleim von der Portiooberfläche ab, um anschließend mit einem dünnen Tupfer 3%- ige Essigsäurelösung aufzutragen. Das Bild wird so sehr viel klarer; die Drüsenöffnungen treten deutlich hervor und auch die Umwandlungszone, der Übergang vom Zylinderepithel der Zervix zum Plattenepithel der Portio, tritt nun eindrucksvoll in Erscheinung. Die Abgrenzung des Plattenepithels von Zylinderepithel wird verschärft. Zudem wird erst nach Essigsäureapplikation die Struktur

des Zylinderepithels sichtbar: es erscheint träubchenförmig (Hinselmann, 1938).

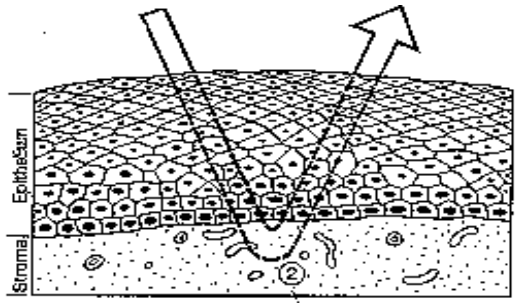


Abbildung 2a:
Reflexion von Licht nach Essigsäureapplikation bei gesunder Portiooberfläche

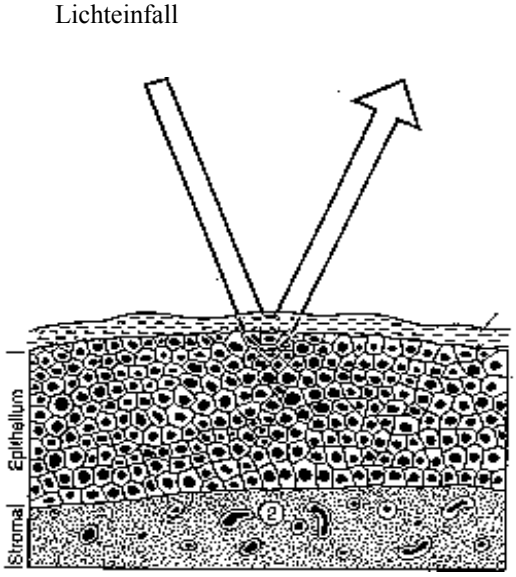


Abbildung 2b:
Reflexion von Licht nach Essigsäureapplikation bei schwerer Dysplasie

Die Reaktion schwergradiger Veränderungen auf die Applikation von essigsäurehaltiger Lösung erklärt sich wahrscheinlich durch die osmotische Dehydratation, die den dichten Chromatingehalt des Gewebes optisch verstärkt. Die Reaktion leichtgradiger Läsionen ist auf eine vorübergehende Interaktion zwischen Essigsäure und veränderten Oberflächenproteinen in papillomavirusinfizierten Keratinozyten zurückzuführen (Reid, Scalzi, 1985).
Auffällige Befunde können erkannt und einer weiteren Diagnostik zugeführt werden (Hinselmann, 1938).

3.1.2. Jodprobe

Schiller führte 1928 als weiteres Hilfsmittel die Jodprobe ein. Die Jodpinselung sollte ebenfalls die Abgrenzung von noch gesundem zu bereits pathologisch veränderten Plattenepithel erleichtern. Spezifisch ist nur die positive Reaktion des normalen und gesunden Plattenepithels. Mit einer mahagonibraunen Farbe und damit jodpositiv reagiert glykogenhaltiges ausgereiftes Plattenepithel; jodnegative Areale sind verdächtig, aber nicht sofort gleichzusetzen mit einem beginnenden oder weit fortgeschrittenen Karzinom.

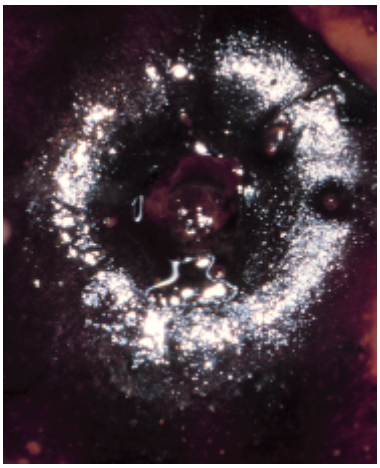


Abbildung 3:
unauffällige Reaktion nach Applikation von Schillerscher Jodlösung

Auch die Jodprobe ermöglicht es so, schnell und ohne große Kosten auf verdächtige Areale hinzuweisen. Beginnende Karzinome, die ohne weitere Hilfsmittel auch mit dem Kolposkop noch nicht erkennbar sind, reagieren oft schon jodnegativ, und so kann eine weitere diagnostische Abklärung ermöglicht werden (Schiller, 1929). Schiller führte bei jodnegativem Befund eine Abschabung des auffälligen Epithels durch. Es fand sich (bei einer sehr geringen Fallzahl) nur bei 17% der jodnegativen Fälle tatsächlich ein

Karzinom. Die jodnegative Reaktion stellt somit zunächst einen verdächtigen und abklärungsbedürftigen Befund dar.
Hinselmann war schon 1938 der Meinung, daß die Kolposkopie einen solchen Vorteil gegenüber der Untersuchung nur mit unbewaffnetem Auge und ohne weitere Hilfsmittel hat, daß man grundsätzlich die Kolposkopie mit Essigsäure- und Jodprobe bei jeder Patientin anwenden sollte (Hinselmann, 1938)

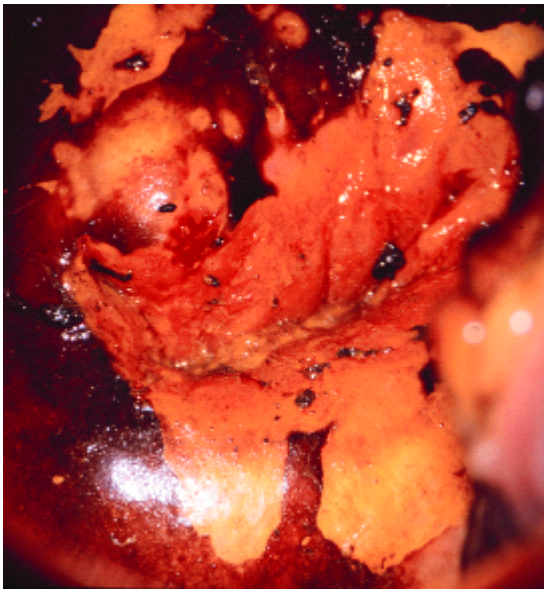


Abbildung 4:
auffällige Reaktion nach Applikation von Schillerscher Jodlösung

3.2. Kolposkopisch auffällige Befunde

Als kolposkopisch auffällig gelten Leukoplakien, essigweiße Areale, jodnicht-reaktive Areale, sowie Mosaike und Punktierungen.

3.2.1. Leukoplakie

Eine Leukoplakie ist ein scharf begrenzter erhabener weißer Fleck, der meist eine schollige Oberfläche hat. Die Verhornung ist ein charakteristisches Zeichen des atypischen Epithels.

3.2.2. Essigpositive Areale

Vor Anwendung von essigsäurehaltiger Lösung erscheint die unveränderte Portio in der Farbe des gefäßreichen Bindegewebes. Nach Applikation von Essigsäure koagulieren zelluläre Proteine. Dadurch zeigt das Plattenepithel eine opaque Farbe. In gesundem Gewebe sind in den Zellen minimale Mengen Proteine und große Mengen Glykogen enthalten. In atypischen Zellen enthalten Zellmembran, Zellkern und Zytoplasma große Mengen Proteine, insgesamt ist nur wenig Glykogen vorhanden. Wenn das Gewebe dicker oder zellreicher ist, zeigt es sich in einem noch kräftigeren Weiß.

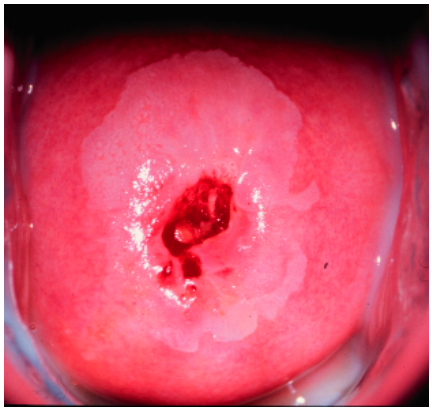


Abbildung 5: auffällige Transformationszone nach Applikation von essigsäure-haltiger Lösung

Nach Reid werden bei der Essigreaktion 3 Merkmale untersucht: die Dicke, der Grad der weißen Farbe und die Ober-flächenbeschaffenheit (Reid et al., 1984). Der Grad der weißen Reaktion hängt von der Dicke der Oberflächenhyperkeratose ab (Ferency, Winkler, 1987, a).

In Abstrichen von essigweißen Arealen lassen sich signifikant mehr HPV- Infektionen nachweisen als wenn keine essigweiße Reaktion

vorhanden ist, dennoch hat die Applikation von Essigsäure eine geringe Sensitivität in der Aufdeckung von Infektionen mit humanen Papillomaviren (Jonsson et al., 1997).

Mit zunehmender Größe der gefunden Läsion steigt das Risiko für einen höhergradigen histologischen Befund. In einer Untersuchung von Kirkegaard bei 896 Patientinnen zeigten von den kleinen Läsionen 74% HPV- assoziierte Veränderungen und 9% schwergradige Veränderungen (CIN III). Bei großen Läsionen ließ sich bei 47% histologisch ein schwergradiger Befund nachweisen (Kirkegaard et al., 1995).

3.2.3. Punktierung und Mosaik

Punktierung und Mosaik sind unterschiedliche Erscheinungsformen atypischer Gefäßstrukturen. Wenn die Kapillaren das ganze Epithel durchsetzen und als rote Punkte zu sehen sind, dann verwendet man den Begriff Punktierung. Erscheinen die Kapillaren in wandähnlichen Strukturen, die die Oberfläche in wabenartige Strukturen zu unterteilen scheinen, bezeichnet man dies als Mosaik.

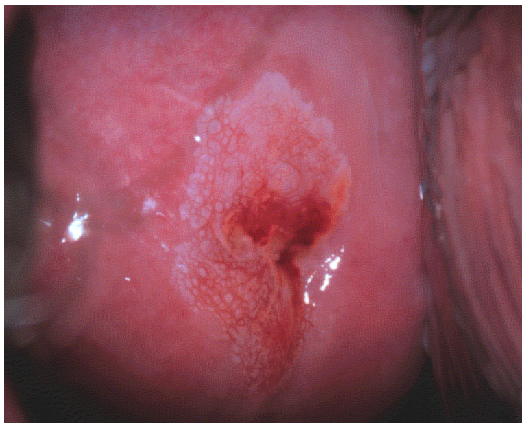


Abbildung 6a: Mosaik

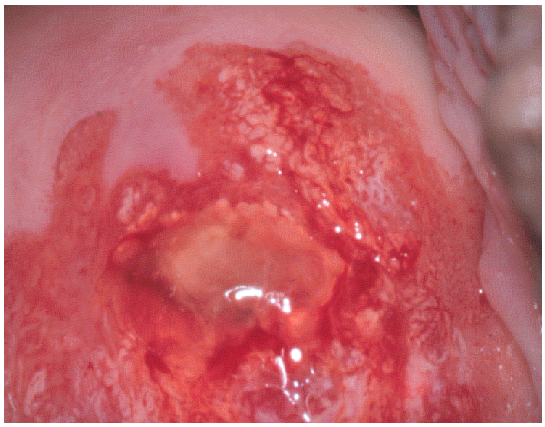


Abbildung 6b: Mosaik

Ziel der Kolposkopie soll sein, beginnende Veränderungen und Vorstufen und nicht erst das Stadium eines Karzinoms zu entdecken.

4. Zytologische Diagnostik

Der sogenannte „Pap- Abstrich“ wurde 1943 von Papanicolaou eingeführt. Man entnimmt zwei Abstriche: einen von der Portiooberfläche und einen zweiten aus dem Zervikalkanal. Untersucht werden der Hintergrund des Präparates, das Gesamtbild der Zellen sowie Einzelzellen.

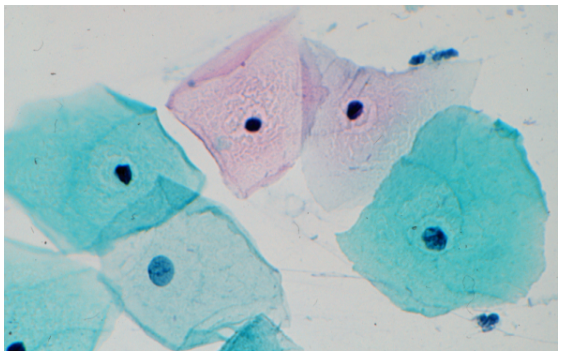


Abb. 7: unauffälliger zytologischer Abstrich

Der Hintergrund erlaubt eine Aussage, ob eine schwere Begleitentzündung vorliegt oder sich autolytisches Gewebe im Präparat befindet.
Entzündliche Veränderungen zeigen, bedingt durch Bakterien, einen „schmutzigen“ Hintergrund. Beginnende Dysplasien dagegen zeigen meist einen sauberen Hintergrund bei dysplastischen Zellen. Der unterschiedliche Hintergrund erleichtert die Abgrenzung von entzündlichen Veränderungen und beginnender Dysplasie.
Zellen eines infiltrativen Tumors liegen oft auf einem Hintergrund, der durch autolytisches Gewebe und Zerfallsprodukte verschmutzt

ist.

Krebszellen dissoziieren in zahlenmäßig größerem Umfang aus dem Gewebe als gesunde Zellen. Undifferenzierte Karzinome besitzen eine größere Dissoziationsneigung als hochdifferenzierte Malignome.

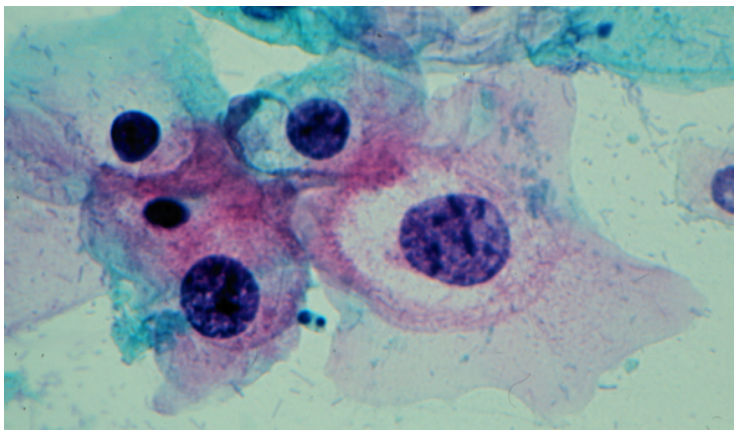


Abbildung 8: Pap III D

Einen regelmäßigen Verband charakterisiert eine Zellgruppe mit regelmäßiger Zellanordnung und gut erhaltenen Zellgrenzen, dies findet sich bei gesundem Gewebe und dysplastischen Zellen.

In einem unregelmäßigen Verband sind die Zellen ungeordnet und die Zellgrenzen treten nur undeutlich hervor. Carcinoma in situ und Plattenepithelkarzinome zeigen unregelmäßige Zellverbände.

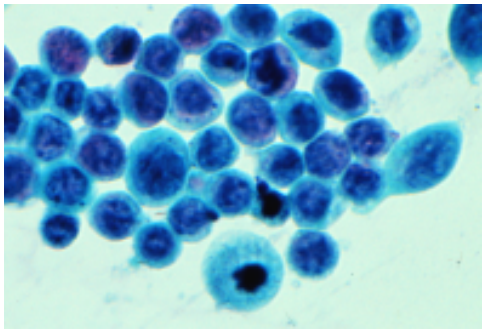


Abbildung 9: Pap IVa

Bei der Betrachtung der einzelnen Zelle achtet man besonders auf die Form der Kerne. Als dyskariotisch bezeichnet man ein Zellbild

dann, wenn die Zellkerne atypisch geformt sind. Die Kern- Plasma-Relation ist zugunsten des Kerns verschoben, das Chromatin ist verklumpt und irregulär.

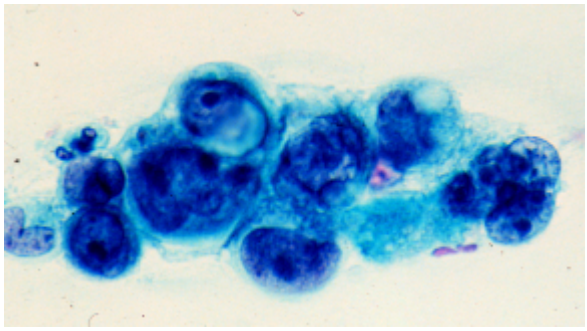


Abbildung 10: Pap V, Adeno-Ca

4.1. Morphologie HPV- positiver Zellen

1960 entdeckte Papanicolaou in zytologischen Abstrichen von exophytischen Kondylomen „neue“ Zellen, die er als gut differenzierte Zellen mit Kernvergrößerung und viel Zytoplasma beschrieb. Die wichtigste Beobachtung war der perinukleäre Halo in einigen Zellen, die sich in Genitalwarzen entwickelt hatten (Papanicolau, 1960).

Diese von nun an Koilozyten (koilos (griechisch) = hohl) genannten Zellen sind Zellen, die perinukleär leer erscheinen und peripher dieses Halo sehr dicht zu sein scheinen. Sie sind pathognomonisch für eine Infektion mit humanen Papillomaviren. Die Zellkerne sind hyperchromatisch (Syrjänen, 1980; Meisels et al., 1985).

Kaur und McDougall untersuchten das unterschiedliche Verhalten von durch HPV- 18 transformierten humanen Keratinozyten im Vergleich zu nicht transformierten. In der Zellkultur zeigten sich deutliche Unterschiede: die HPV- 18 positiven Zellen wuchsen weniger dicht als die nicht transformierten, welche immer auf der

gesamten Fläche dicht an dicht lagen. Während die normalen Keratinozyten immer alle nahezu identisch polygonal konfiguriert waren, zeigten die transformierten Zellen keine einheitliche Struktur mehr (Kaur, McDougall, 1988).

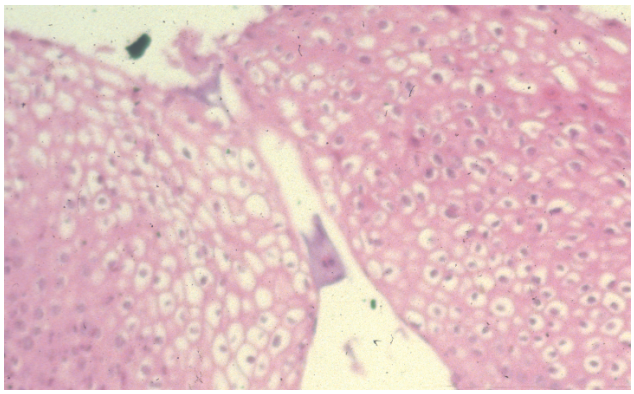


Abb. 11: Koilozyten im histologischen Schnitt (Sotlar)

5. Histologische Diagnostik

Bei auffälligem kolposkopischen Befund (essigweißem Areal, Mosaik, Punktierung, Leukoplakie) oder zytologischen Befund (Pap III D seit mehr als 2 Jahren, Pap IV a oder schwergradiger) sollte eine histologische Abklärung erfolgen. Befinden sich die Veränderungen auf der Portiooberfläche, ist eine Gewebeentnahme aus einem auffälligen Areal möglich. Man muß sich dabei aber im Klaren sein, daß falsch negative Befunde möglich sind, wenn nicht der auffälligste Bezirk gewählt wird. Nur eine Konisation kann genaue Auskunft über die Größe des Prozesses geben.

Im reproduktiven Alter verlagert sich das Zylinderepithel, das sich vor der Pubertät nur im Zervikalkanal befindet, nach außen auf die Portiooberfläche. Diesen Befund nennt man Ektopie. Das Zylinderepithel ist aus stark verzweigten Drüsen aufgebaut und auf

der Portiooberfläche vielen Reizen ausgesetzt: zu den physiologischen kann man das saure Scheidenmilieu zählen. Dieser saure pH- Wert ist in der Vagina als Schutz vor Infektionen nötig, greift aber das empfindliche Zylinderepithel an.

5.1. Histologische Diagnosen

5.1.1. Zervizitis

Eine Zervizitis kann infektiöser oder nicht infektiöser Genese sein.
Durch chemische (Vaginalsprays) und mechanische (Verletzungen) Reize entsteht eine nicht infektiöse Zervizitis; die entzündliche Antwort ist unspezifisch.
Verschiedene virale und bakterielle Infektionen können eine infektiöse Zervizitis verursachen. Als wichtige bakterielle gelten Chlamydieninfektionen. Das Zylinderepithel ist wesentlich empfindlicher für eine Infektion als das Plattenepithel, damit ist eher die Endozervix von der Infektion betroffen.
Unter den Viren sind besonders das Herpes- simplex- Virus und das humane Papillomavirus zu erwähnen. Beide befallen bevorzugt Plattenepithel und verursachen charakteristische Veränderungen. Bei einer Infektion mit Herpes Viren finden sich im zytologischen Abstrich große, vielkernige Zellen mit charakteristischen Viruseinschlüssen im Kern. Bei einer Infektion mit Papillomaviren findet man Koilozyten in den oberen Zellschichten.
Im akuten Stadium findet man leukozytenreiche Infiltrate, das Stroma erscheint ödematös aufgelockert. Makroskopisch erscheint die Portio rötlich geschwollen (Ferency, Winkler, 1987a).

Bei einer chronischen Zervizitis dagegen erkennt man lymphoplasmazytäre Infiltrate und Lymphfollikel. Die Portio ist hyperämisch; es können Erosionen und Ulzerationen zu sehen sein.

5.1.2. Plattenepithelmetaplasie

Als Metaplasie bezeichnet man die Umwandlung eines ausdifferenzierten Gewebes eines bestimmten Typs in ein differenziertes Gewebe eines anderen Typs.
An der Cervix uteri kommt es zu einer Proliferation von Reservezellen des endozervikalen Epithels und danach zu einer Transformation in reifes Plattenepithel (Ferenczy, Winkler, 1987a).

5.1.3. Cervikale intraepitheliale Neoplasie: CIN

Dysplasie bedeutet präneoplastische Zellatypie und beinhaltet zelluläre Abweichung von der Norm und einen veränderten Gewebeaufbau. Die Dysplasie ist reversibel. Sie wird in drei unterschiedliche Schweregrade eingeteilt: leicht-, mittel- und schwergradige Dysplasie.
Cervikale intraepitheliale Neoplasien sind fakultative Präkanzerosen. Dies bedeutet, daß die Entartungstendenz zwar erhöht ist gegenüber gesundem Epithel, jedoch eher als niedrig einzustufen ist und eher lange Zeit bestehen kann ohne maligne zu werden. Obligate Präkanzerosen dagegen bergen ein relativ hohes Entartungsrisiko und die Zeitdifferenz zwischen erstem Auftreten der Zellveränderung und dem Übergang in das Karzinom ist sehr kurz.
Die Einteilung in verschieden Schweregrade basiert auf dem Anteil

undifferenzierter Zellen im Epithel. Einen zunehmenden Verlust der Epithelausreifung und sinkende Glykogeneinlagerung zeigt ein Zunehmen des Schweregrades der Läsion an (Ferency, Winkler, 1987 a).

5.1.3.1. CIN I

Bei der Cervikalen intraepithelialen Neoplasie I finden sich atypische Zellen im unteren Drittel des Epithels. Es zeigen sich leichte Reifungsstörungen in der basalen Zellschicht. Die beiden oberen Drittel des Epithels werden von normal geformten, ausgereiften Zellen ausgefüllt (Ferency, Winkler, 1987b).
Furber et al. untersuchten den Verlauf von 738 leichtgradigen Befunden über einen Zeitraum von 2 Jahren. Insgesamt konnte bei 27% der Patientinnen mit CIN I eine Progression nachgewiesen werden. Einen Einfluß auf das Risiko einer Progression hatte die Diagnose beim Beginn der Untersuchung und die Größe der Läsion. Richtungsweisend für eine Regression ist ein höheres Alter, wenige Sexualpartner und ein Fehlen einer Herpesinfektion in der Anamnese (Furber et al., 1997).

5.1.3.2. CIN II

Die basale Hälfte des Epithels ist durchsetzt von atypischen Zellen, die Zellkerne sind polymorph (Ferency, Winkler).
Die Zellen der oberen Epithelhälfte sind noch normal geformt und differenziert, aber der Gehalt an intrazytoplasmatischem Glykogen nimmt ab; dies ist ein Zeichen verminderter Zellausreifung.

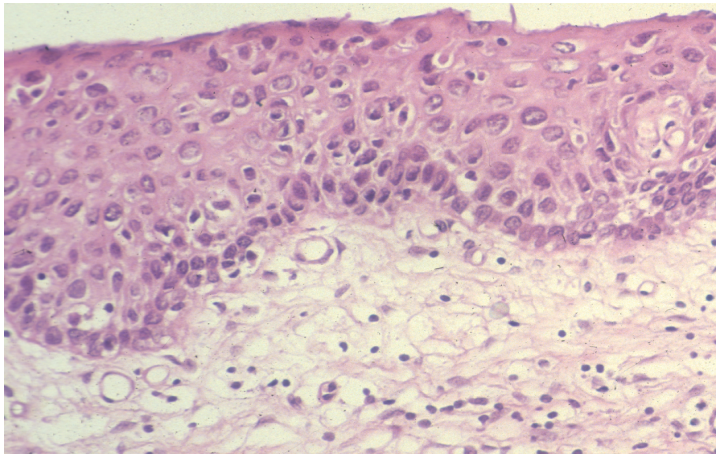


Abbildung 12: CIN II

5.1.3.3. CIN III

Bei dieser Diagnose durchsetzen atypisch geformte Zellen die basalen Zwei-Drittel bis zur gesamten Breite des Epithels (Ferency, Winkler, 1987b).
Mit zunehmender histologischer Dedifferenzierung sinkt der Gehalt an Glykogen, Desmosomen und Zellfilamenten.

Die Wichtigkeit, diese Schweregrade zu unterscheiden, wird unterstützt durch die unterschiedliche Prognose hinsichtlich Regression, Persistenz und Progression und durch die unterschiedliche Häufigkeit der gefundenen HPV- Typen.
Östör hat mehrere Veröffentlichungen bezüglich Regression und Progression von cervikalen intraepithelialen Neoplasien untersucht. Insgesamt fand er für CIN I eine Regressionsrate von 57% und eine Progressionsrate von 11%.
Bei der Diagnose CIN II werden Regressionsraten von 43% beschrieben, Progressionsraten von 22%. In 5% fand sich eine Progression zur Invasion.

Bei der histologischen Diagnose CIN III fand sich bei 32% eine Regression, aber bei 12% eine Progression zur invasiven Erkrankung (Östör, 1993).

5.1.3.4. Natürlicher Verlauf der cervikalen intraepithelialen Neoplasie

Verschiedene Überlegungen zeigen, daß es schwierig ist, den „natürlichen Verlauf“ der cervikalen intraepithelialen Neoplasie zu beschreiben und unterschiedliche Studien und Untersuchungsergebnisse miteinander zu vergleichen. Eine Biopsie könnte den natürlichen Verlauf beeinflussen, sie kann therapeutisch sein und läßt so keine Aussage über das eigentliche Verhalten der Läsion zu. Nicht alle Untersuchungen nehmen als Goldstandard die histologische Diagnostik als Grundlage der Verlaufskontrolle sondern oft wird als Kontrolle die Zytologie gewählt, dies macht ein Vergleichen mehrerer Studien schwierig. Fälschlicherweise wird man von einer Progression der Erkrankung ausgehen, wenn bei der ersten Untersuchung nicht der schwergradigste Befund biopsiert wurde, dies aber beim Follow- up der Fall ist (Östör, 1993).

5.1.4. Histologische Differenzierung des Zervixkarzinoms

Histologisch kann man das Zervixkarzinom in Platten- und Adenokarzinome differenzieren.
Plattenepithelkarzinome werden unterteilt in verhornende und in nicht verhornende. Die nicht verhornenden werden weiter unterteilt in klein- bzw. großzellige. Sie unterscheiden sich im histologischen

Bild wie auch in Häufigkeit und Verlauf: verhornende Plattenepithelkarzinome sind sehr häufig; nicht verhornende großzellige Plattenepithelkarzinome selten; nicht verhornende kleinzellige Plattenepithelkarzinome sind eine absolute Rarität, sie verhalten sich extrem aggressiv. Das Plattenepithelkarzinom entsteht in den meisten Fällen in der Transformationszone, dem Bereich in dem sich die Grenze zwischen dem mehrschichtigen Plattenepithel der Zervix und dem Zylinderepithel der Endozervix befindet, oder im Epithel der Ektozervix.
Das Adenokarzinom geht vom schleimsezernierenden Zylinderepithel aus. Es zeigt einen prognostisch ungünstigeren Verlauf als das Plattenepithelkarzinom, da es frühzeitig in Lymphknoten metastasiert und weniger strahlenempfindlich ist. Bei der Entstehung des Adenokarzinoms spielt auch die lange Einnahme gestagenhaltiger Hormone eine Rolle: diese scheinen das endozervikale Epithel für die HPV- Infektion anfälliger zu machen (Torhorst, Freudenberg, 1993).

5.2. Schwierigkeiten der histologischen Diagnostik

Es gibt einige Studien, in denen die Verläßlichkeit der histologischen Diagnostik untersucht wurde. Demnach herrscht bei interindividuellen und intraindividuellen Vergleichen eine höhere Einigkeit und Reproduzierbarkeit bei normalem Befund, den benignen Läsionen (Metaplasie, Entzündung) und schwergradigen Läsionen (CIN III und Karzinom) und weniger gute Übereinstimmung bei den mittelgradigen Befunden CIN I und CIN II (Robertson et al., 1989).

Ismail ließ von 7 Pathologen 100 Biopsien zweimal befunden und verglich dann, wie viele Pathologen bei beiden Untersuchungen zu der gleichen Diagnose kamen. Exakte Übereinstimmung mit dem ersten Ergebnis fand sich dann bei 66% der Biopsien. Die beste Reproduzierbarkeit ließ sich bei Karzinomen (100%) und schwergradigen Dysplasien (79%) nachweisen, die schlechteste bei CIN I, 34% (Ismail et al., 1990).

Fragestellungen

Wir wollten herausfinden, welche kolposkopischen Befunde auf Karzinome aber auch auf Präkanzerosen und benigne Veränderungen der Cervix uteri hinweisen können und welcher Zusammenhang zu Infektionen mit humanen Papillomaviren besteht. Des weiteren wollten wir herausfinden, welche Befunde Zervizitiden bei der kolposkopischen Untersuchung zeigen und welche zytologischen Befunde erhoben wurden. Einige Patientinnen wurden mit der Diagnose Kontaktblutungen überwiesen; bei diesen haben wir kolposkopische, zytologische und histologische Befunde erhoben.

1. Welche kolposkopischen Befunde weisen auf hochgradige Läsionen hin?
2. Korrelation histologischer Befunde mit Papillomavirusinfektionen
3. Zytologische, kolposkopische und molekularbiologische Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis
4. Histologie und Kolposkopie bei Kontaktblutungen

II. Material und Methodik

6. Patientinnen

1247 Patientinnen wurden zwischen Januar 1996 und Juni 1999 von niedergelassenen Gynäkologen wegen auffälliger zytologischer und histologischer Befunde oder wegen unterschiedlicher Beschwerden in die Sprechstunde „Kolposkopie“ der Universitätsfrauenklinik Tübingen überwiesen.

6.1. Überweisungsgründe

Die häufigste Indikation zur Überweisung in die Sprechstunde für Kolposkopie der Universitätsfrauenklinik war ein auffälliger zytologischer Befund.

Überweisungsgrund	**Anzahl Patientinnen**
Zytologie auffällig	**317**
Pap III	10
Pap III D	204
Pap IV a	76
Pap IV b	5
Pap V	5
Unbekannt	17
Beschwerden	**34**
Blutungen	19
Pruritus vulvae	10
Fluor	5
Kondylome	**35**
Kontrolluntersuchung	**41**
V.a. Dysplasie	**17**
V.a. HPV- Infektion	**22**
Sonstige	**74**

Tabelle 2: Überweisungsdiagnosen

In der Sprechstunde für Kolposkopie erfolgte eine umfangreiche

Anamneseerhebung und danach eine ausführliche Befunderhebung. Für die zytologische Untersuchung wurden 2 Abstriche (einer von der Portio, sowie einer aus dem Zervikalkanal) mit Hilfe eines Wattestäbchens entnommen, auf einem Objektträger ausgestrichen und bis zur Befundung in einer Fixierlösung aufbewahrt; ein weiterer Abstrich dient dem Nachweis von Papillomaviren mittels einer PCR, diese Wattestäbchen werden in einer Proteinase K- Pufferlösung aufbewahrt.
Nach diesem Teil der Untersuchung erfolgte die kolposkopische Untersuchung mit Applikation von essigsäure-haltiger Lösung, Schillerscher Jodlösung und jeweils photographischer Dokumentation.

7. Diagnostische Methoden

7.1. Kolposkopie

Die kolposkopischen Untersuchungen wurden von 5 Gynäkologen (Fachärzte und erfahrene Assistenzärzte) durchgeführt.
Bei jeder Patientin wurden Abstriche für die zytologische Diagnostik sowie für die HPV- PCR gewonnen. Zeigte sich bei der Untersuchung ein auffälliger Befund (essigweißes Areal, Mosaikstruktur, Punktierung oder karzinomverdächtige Strukturen), wurde zusätzlich nach entsprechender Aufklärung der Patientin mit einer Biopsiezange eine Knippsbiopsie für die histologische Aufarbeitung gewonnen.
Die Einschätzung des kolposkopischen Befundes durch den Untersucher wurde in Anlehnung an den von Reid eingeführten kolposkopischen Index durchgeführt.

Für jeden von 5 untersuchten Parametern werden 0, 1 oder 2 Punkte vergeben:

Befund	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte
Dicke	grenzwertig vermehrt	deutlich vermehrt	
Oberfläche	kondylomatös	flach	
Farbe	glänzend- weiß	glänzend- grau-weiß	matt- grau
Gefäße	warzenartig	keine	Punktierung/ Mosaik
Iodreaktion	positiv	teilweise	negativ

Tabelle 3: Reid- Score

Wurde kein auffälliger Bereich gesehen, wurde die Patientin als Gruppe N (unauffälliger Befund) eingestuft.
War die Transformationszone der Portio nicht vollständig einsehbar, wurde die Gruppe U (unknown) vergeben.
Bei 0-2 Punkten nach dem Reid- Score handelt es sich bei der Patientin um eine subklinische HPV- Infektion oder eine leichtgradige Dysplasie.
Bei 3-5 Punkten liegt dem Befund ein leicht-mittelgradige Dysplasie zu Grunde, bei 6-8 Punkten eine mittel-schwergradige Läsion.

7.2. Zytologische Diagnostik

Die zytologischen Abstriche wurden im zytologischen Labor der Universitätsfrauenklinik Tübingen (Laborleiter: Prof. M. Menton) von 2 Fachärzten befundet. Eingruppiert wurden sie nach der Münchener Nomenklatur (Wagner, 1990).

7.2.1. Münchner Nomenklatur II

Zytologische Befunde werden nach der Münchner Nomenklatur II klassifiziert.

Gruppe	Beschreibung
I	• normales, dem Alter entsprechendes Zellbild; • leichte entzündliche und degenerative Veränderungen
II	• deutlich entzündliche Veränderungen an Zellen des Platten- und Zylinderepithels; • unreife metaplastische Zellen, Para- und Hyperkeratosezellen; • Zellveränderungen im Rahmen einer follikulären Zervizitis • Zeichen einer HPV- Infektion ohne wesentliche Kernveränderungen
IIID	• Zellen einer leicht bis mäßigen Dysplasie; • Zeichen einer HPV- Infektion sollten besonders erwähnt werden ➢ empfohlen wird eine Kontrolle des Befundes innerhalb von 3 Monaten
IVa	• Zellen einer schweren Dysplasie oder eines Carcinoma in situ. • Zeichen einer HPV- Infektion sollten besonders erwähnt werden. ➢ empfohlen wird die histologische Klärung des Befundes.
IVb	• Zellen einer schweren Dysplasie oder eines Carcinoma in situ. • Zellen eines invasiven Karzinoms nicht auszuschließen. ➢ empfohlen wird die histologische Klärung.
V	• Zellen eines malignen Tumors: - Plattenepithelkarzinom: verhornend oder nicht verhornend - Adenokarzinom: endozervikalen, endometrialen oder extrauterinen Ursprungs - Zellen sonstiger malignen Geschwülste ➢ empfohlen wird die histologische Klärung.
III	• bezeichnet einen unklaren Befund: • schwere entzündliche oder degenerative Veränderungen, die eine sichere Beurteilung zwischen gut- und bösartig nicht zulassen. ➢ Abhängig vom klinischen Befund sollte kurzfristig eine erneute zytologische Kontrolle erfolgen oder histologische Klärung.

Tabelle 4: Zytologie: Münchener Nomenklatur

7.3. Histologische Diagnostik

Die Untersuchung der histologischen Präparate erfolgte im histopathologischen Labor des Instituts für Pathologie der Universität Tübingen.

7.3.1. Histologische Diagnosen

In die statistische Auswertung gingen die Daten der 540 Patientinnen ein, bei denen sich histologisch eine der Diagnosen Zervizitis, Metaplasie, CIN I, CIN II, CIN III (Cervikale intraepitheliale Neoplasie) oder Karzinom der Cervix uteri ergeben hatte.

Histologie	**Anzahl Patientinnen**
Zervizitis	63
Metaplasie	109
CIN I	127
CIN II	124
CIN III	105
Karzinom	12
Summe	540

Tabelle 5: Häufigkeitsverteilung der untersuchten histologischen Diagnosen

Bei 63 Patientinnen wurde eine Zervizitis diagnostiziert, bei 109 eine Metaplasie. Insgesamt konnten 356 cervikale intraepitheliale Neoplasien nachgewiesen werden, davon 127 leichtgradige, 124 mittelschwere und 105 schwergradige. Im untersuchten Zeitraum stellten sich 12 Patientinnen mit einem Zervixkarzinom in der Sprechstunde für Kolposkopie vor.

Wurden bei einer Patientin 2 oder mehr Biopsien mit unterschiedlichen Diagnosen entnommen, wurde die Patientin nach dem schwergradigsten Befund eingruppiert: dabei wurde folgende Reihenfolge zugrunde gelegt: Zervizitis< Metaplasie< CIN I< CIN II< CIN III< Karzinom.

7.4. Polymerase- Kettenreaktion- PCR

Die Abstriche wurden mit Watteträgern durchgeführt und in einem mit Proteinase- k- Pufferlösung gefüllten Eppendorftube bis zur DNA- Gewinnung aufbewahrt.
Der Nachweis von HPV- DNA in den Abstrichen von Zervix und Portio wurde im Institut für Pathologie von Herrn PD. Dr. Sotlar durchgeführt (Sotlar et al, 1998).

8. Statistische Methoden

Konfidenzintervalle wurden mittels folgender Formeln errechnet: für die untere Grenze des Intervalls wurde ug (Untere Grenze) = X- 1,96*s/√n. angewendet. Dabei steht X für den Mittelwert, s für die Standardabweichung und n für den Stichprobenumfang. Für die obere Grenze wird der Wert entsprechend og (obere Grenze) = X+ 1,96*s/√n errechnet.
Auf die Berechnung von Signifikanzen wurde verzichtet. In den Tabellen ergaben sich wegen vieler histologischer Diagnosen und vieler untersuchter Parameter in jeder Tabelle Felder mit Fallzahlen < 5, so daß die Berechnung statistischer Werte fragwürdig erschien.

III. Ergebnisse

9 Kolposkopisch auffällige Befunde

Als auffällig gelten Leukoplakien, sowie Bereiche, die sich durch Essigsäureapplikation färben oder durch Applikation von Jodlösung nicht anfärben lassen und Mosaikstrukturen sowie Punktierungen.
Auf die Auswertung von Leukoplakien und jodnegativen Arealen wurde wegen geringer Fallzahl verzichtet

9.1. Alter bei Diagnosestellung

Für jede histologische Diagnose wurde der Median sowie die 25% und 75% Quantile bestimmt (Tabelle 5, Abbildung 15).

Histologie	Alter Median	25%- Quantil	75%- Quantil
Zervizitis, N= 63	37	31	45
Metaplasie, N= 109	32	28	40
CIN I, N= 127	33	28	38
CIN II, N= 124	30	26	36
CIN III, N=105	33	28	39
Karzinom, N= 12	43	36	63

Tabelle 6: Alter bei Diagnosestellung:
angegeben ist für jede untersuchte histologische Diagnose der Median sowie das 25% und das 75% Quartil

Die Patientinnen mit der histologischen Diagnose Zervizitis sind im Median 37 (25%/ 75% Quantil: 31/ 45) Jahre alt, diejenigen mit Metaplasie 32 Jahre (28/ 40). Das niedrigste Alter haben die Patientinnen mit cervikaler intraepithelialer Neoplasie Grad II (26/-36), das höchste Alter Patientinnen mit Zervixkarzinom (36/ 63).

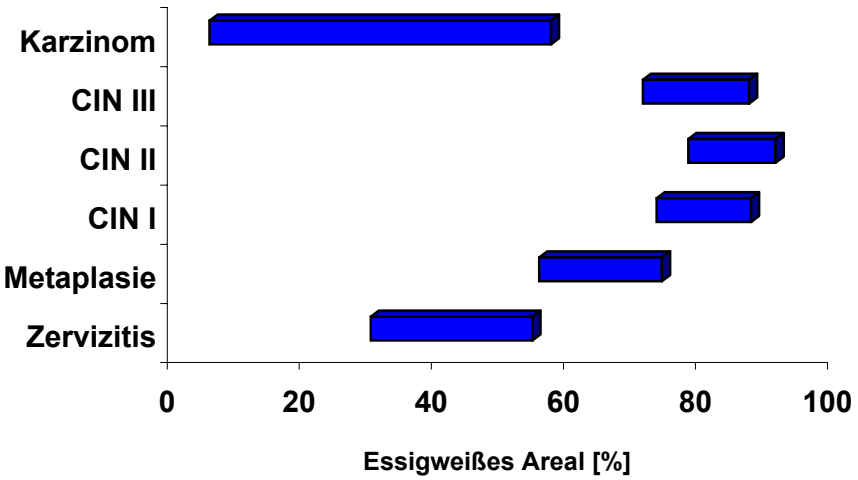
9.2. Relative Häufigkeit des kolposkopischen Befundes „essigpositives Areal“

Als essigpositiv wird ein Areal bezeichnet, das nach Applikation von 5%-iger Essigsäure als weiße oder graue Struktur sichtbar wird. Findet sich eine essigpositive Läsion, wird diese weiter differenziert nach Farbreaktion, Oberflächenbeschaffenheit und Rand-begrenzung (Tabelle 7, Abbildung 13).

Histologie	Essigpositive Reaktion		Konfidenzintervall	
	N	[%]	untere/obere Grenze	
Zervizitis, N= 63	26	41	30	54
Metaplasie, N= 109	71	65	55	74
CIN I, N= 127	103	81	73	88
CIN II, N= 124	106	86	78	91
CIN III, N= 105	84	80	71	87
Karzinom, N= 12	3	25	6	57
Summe N= 540	393			

Tabelle 7: Häufigkeit essigpositiver Reaktionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund:
für jede histologische Diagnose wurde der Nachweis essigweißer Areale angegeben.

Abbildung 13: Konfidenzintervalle essigpositiver Reaktionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund: dargestellt ist für jede untersuchte Diagnose das Konfidenzintervall für den Nachweis essigpositiver Areale.



Mit zunehmendem histologischen Schweregrad nimmt die Anzahl nachgewiesener essigpositiver Reaktionen zu, doch die niedrigste Nachweisrate findet sich bei den Patientinnen mit Zervixkarzinom. 41 % der Zervizitiden, 65 % der Metaplasien sowie etwa 83 % der cervikalen intraepithelialen Dysplasien weisen essigpositive Areale auf; bei einem Zervikkarzinom sind essigpositive Areale nur in 25% nachweisbar.

9.2.1. Weitere Differenzierungen der essigpositiven Reaktion

Essigpositive Areale werden weiter differenziert; man untersucht die Farbreaktion, Oberflächenbeschaffenheit und Begrenzung der Läsionen.

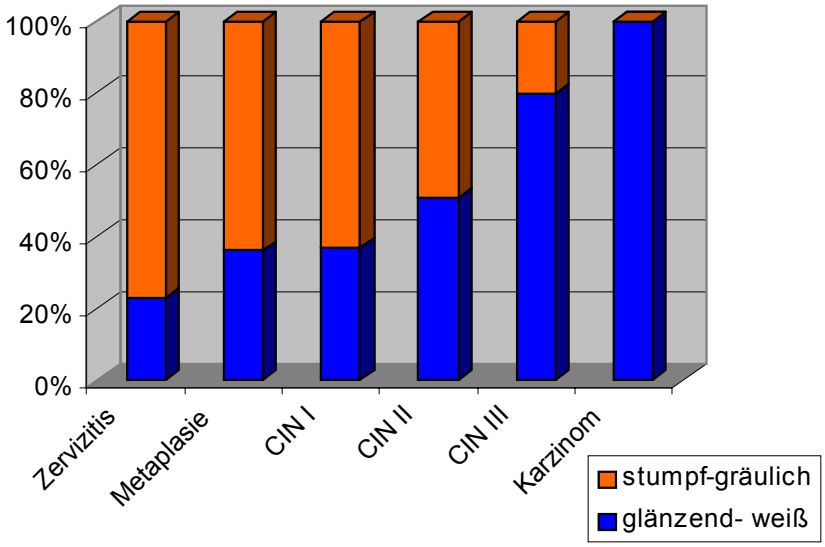
9.2.1.1. Farbreaktion

Bei der Farbreaktion auf essigsäurehaltige Lösung unterscheidet man die Farben glänzend- weiß und stumpf- gräulich (Tabelle 8, Abbildung 14).

Essig-Farbreaktion	**glänzend- weiß**		**stumpf-gräulich**	
	N	**[%]**	**N**	**[%]**
Zervizitis, N= 20	4	3	16	10
Metaplasie, N= 58	21	13	37	23
CIN I, N= 80	29	18	51	31
CIN II, N= 93	47	29	46	28
CIN III, N= 72	58	36	14	9
Karzinom, N= 1	1	1	0	0
Summe, N= 324	N= 160	100	N= 164	101

Tabelle 8: Differenzierung der Essig- Farbreaktion:
für die beiden untersuchten kolposkopischen Befunde bei der Essigfarbreaktion wurden für beide jeweils die Verteilung der histologischen Befunde aufgezeigt.

Abbildung 14: Histologische Befunde bei unterschiedlicher Farbreaktion nach Essigsäureapplikation:
Für die untersuchten Essigfarbreaktionen wurde für beide jeweils die Verteilung der histologischen Befunde aufgezeigt.



In diese Auswertung gingen die 324 essigpositiven Areale ein, bei welchen eine Farbreaktion definiert worden ist.

59% der stumpf- gräulichen Areale zeigen histologisch leicht- mittelschwere Dysplasien; 66% der glänzend- weißen Areale entsprechen histologisch mittel- schwergradigen Dysplasien. Somit weisen glänzend- weiße Areale auf schwergradigere Läsionen hin.

9.2.1.2. Oberflächenbeschaffenheit einer essigpositiven Läsion

Bei einem essigweißen Areal wird die Oberfläche beschrieben als flach, erhaben oder papillär (Tabelle 9).

Essig-Oberfläche	flach		erhaben		papillär	
	N	[%]	N	[%]	N	[%]
Zervizitis, N= 24	20	9	3	3	1	6
Metaplasie, N= 66	56	24	5	5	5	28
CIN I, N= 94	75	32	11	10	8	44
CIN II, N= 97	61	26	32	30	4	22
CIN III, N= 77	24	10	53	50	0	0
Karzinom, N= 3	0	0	3	3	0	0
Summe, N= 361	236	100	107	100	18	100

Tabelle 9: relative Häufigkeiten der Oberflächenbeschaffenheit essigpositiver Reaktionen in Abhängigkeit von der Histologie
Für die drei möglichen Befunde bei der Oberflächenbeschaffenheit der essigweißen Areale wurde für jeden Befund die Verteilung der histologischen Diagnosen dargestellt.

In diese Auswertung gingen 361 essigpositive Läsionen ein.

Flachen Läsionen liegt histologisch in 32% der Fälle eine leichtgradige Dysplasie zu Grunde und in 10% eine schwergradige Dysplasie.

Erhabene Läsionen entsprechen zu 50% histologisch CIN III und zu 80% mittel- und schwergradigen Läsionen.

Papilläre Läsionen entsprechen zu 44% CIN I und in 22% der Fälle mittelgradigen Dysplasien. Eine papilläre Oberfläche konnte nicht bei schwergradigen Läsionen nachgewiesen werden.

Erhabene Läsionen weisen auf schwergradige Befunde hin, papilläre auf leichte.

9.2.1.3. Begrenzung eines essigpositiven Areals

Nach Oberfläche und Farbe wird auch die Begrenzung eines essigpositiven Areals untersucht. Unterschieden wird scharf und unscharf begrenzt (Tabelle 10).

Essig-Rand	**scharf**		**unscharf**	
	N	**[%]**	**N**	**[%]**
Zervizitis, N= 12	10	5	2	5
Metaplasie, N= 41	35	17	6	15
CIN I, N= 57	44	21	13	33
CIN II, N= 73	60	29	13	33
CIN III, N= 66	60	29	6	15
Summe, N= 249	209	100	40	100

Tabelle 10: Randbegrenzung eines essigpositiven Areals
Für alle scharf bzw. unscharf begrenzten essigweißen Areale wurde die Verteilung der histologischen Diagnosen untersucht.

249 essigpositive Läsionen wurden auf ihre Randbeschaffenheit untersucht. 58% der scharf begrenzten essigpositiven Areale entsprechen histologisch mittel- und schwergradigen Dysplasien, unscharfe in 66% leicht- mittelgradigen Dysplasien.
Eher die scharf begrenzten essigpositiven Läsionen weisen auf höhergradige Veränderungen hin.

9.3. Mosaik

Als Mosaik bezeichnet man eine Struktur, die „mosaikartig“ angeordnete unregelmäßig geformte, kleine weiß- gelbliche Felder zeigt. Diese Erscheinung tritt auf, wenn Gefäße durch das Stroma an die Portiooberfläche ziehen. Bei bestimmter Anordnung sind sie als rote Leisten zu erkennen und lassen auf der Portio ein Mosaik

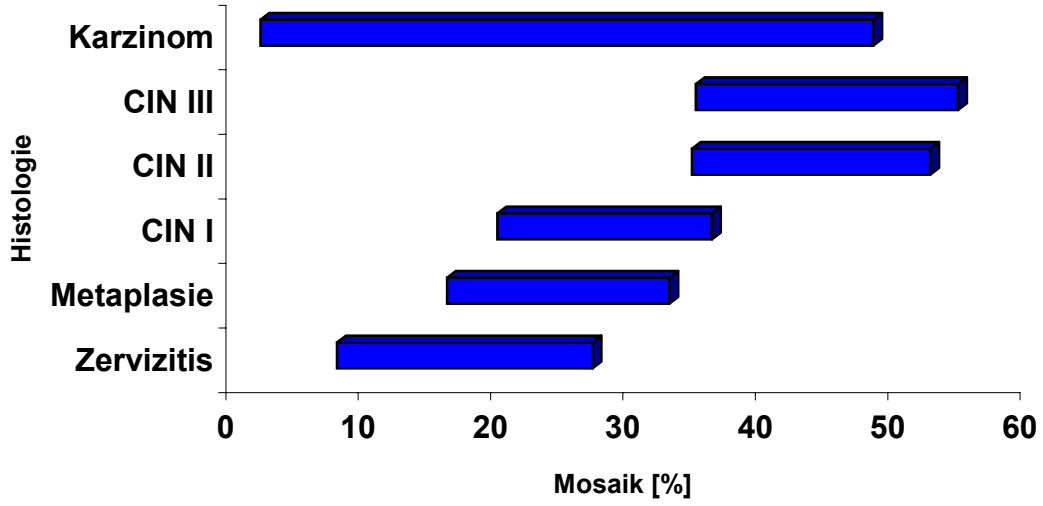
erscheinen. Die Unterscheidung in fein, mittel und grob geschieht nach der Regelmäßigkeit der Struktur.

Bei 174 der Patientinnen mit einer der genannten histologischen Diagnosen fand sich ein Mosaik (Tabelle 11, Abbildung 15).

Histologie	**Mosaik**		**Konfidenzintervall**	
	N	**[%]**	**untere/ obere Grenze**	
Zervizitis, N= 63	10	16	8	27
Metaplasie, N= 109	26	24	16	33
CIN I, N= 127	35	28	20	36
CIN II, N= 124	54	44	35	53
CIN III, N= 105	47	45	35	55
Karzinom, N= 12	2	17	2	48
Summe N= 540	174			

Tabelle 11: Nachweis von Mosaikstrukturen abhängig von der histologischen Diagnose: Für jede histologische Diagnose wurde die relative Häufigkeit und das Konfidenzintervall für das Auftreten von Mosaikstrukturen aufgezeigt.

Abbildung 15: Konfidenzintervalle für den Nachweis von Mosaikstrukturen abhängig von der histologischen Diagnose: Dargestellt ist für jede histologische Diagnose das Konfidenzintervall für den Nachweis eines Mosaiks.



Bei 16% der histologisch gesicherten Zervizitiden läßt sich eine Mosaikstruktur nachweisen, bei Metaplasien sind es 24%. 28% der leichtgradigen Dysplasien sowie jeweils ca. 44% der mittel- und schwergradigen Dysplasien haben kolposkopisch nachweisbare Mosaikstrukturen. Wie auch schon bei den essigweißen Arealen nachgewiesen, steigt die Anzahl der Nachweisrate mit zunehmendem Schweregrad aber auch bei dem Befund Mosaik finden sich die niedrigsten Nachweisraten bei Karzinomen.

9.3.1. Oberflächenbeschaffenheit des Mosaik

Mosaik- Oberfläche	fein		mittel		grob	
	N	[%]	N	[%]	N	[%]
Zervizitis, N= 10	8	11	2	4	0	0
Metaplasie, N= 26	18	24	4	7	4	9
CIN I, N= 35	20	27	13	23	2	5
CIN II, N= 54	18	24	29	51	7	16
CIN III, N= 47	10	14	9	16	28	65
Karzinom, N= 2	0	0	0	0	2	5
Summe, N= 174	74	100	57	100	43	100

Tabelle 12: Oberflächenbeschaffenheit bei Mosaikstrukturen in Abhängigkeit vom histologischen Befund: Für jede Oberflächenbeschaffenheit eines Mosaiks wurde die Verteilung der histologischen Diagnosen aufgelistet.

Einem groben Mosaik liegt in 65% der Fälle eine schwergradige histologische Läsion (CIN III) zugrunde, in 81% mittel- und schwergradige Läsionen. Einem mittelgradigen Mosaik in 51% der Fälle eine mittelschwere Läsion (CIN II) und in 90% leicht- bis schwergradige histologische Läsionen. Ein feines Mosaik deutet in je ca. 25 % der Fälle auf eine Metaplasie oder CIN I oder CIN II hin. Grobe und mittlere Mosaikstrukturen deuten auf eher schwergradige

Läsionen hin, ein feines Mosaik ist eher unspezifisch.

9.4. Punktierung

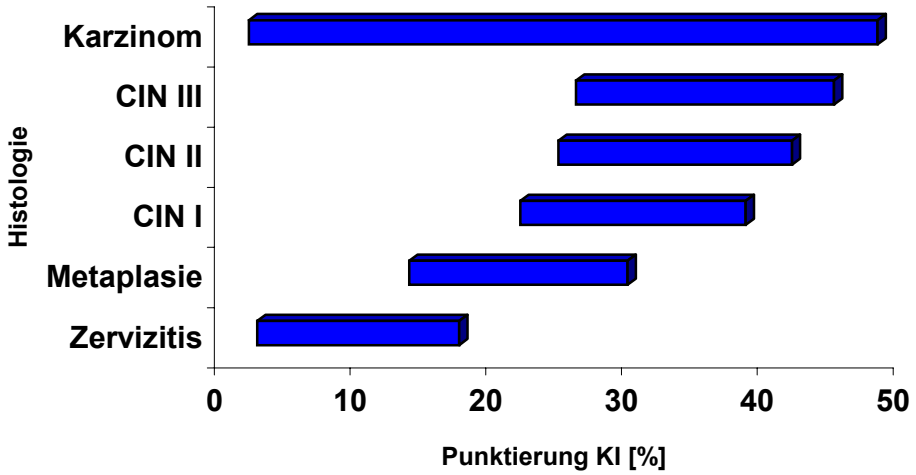
Als Punktierung bezeichnet man Areale, bei denen rote Punkte zu sehen sind. Diese kommen dadurch zustande, daß Gefäße aus dem Stroma an die Oberfläche ziehen.

Bei 146 der Patientinnen mit einer der untersuchten histologischen Diagnosen ließ sich eine Punktierung nachweisen.

Histologie	**Punktierung**		**Konfidenzintervall**	
	N	**[%]**	**untere/ obere Grenze**	
Zervizitis, N= 63	5	8	3	18
Metaplasie, N= 109	23	21	14	30
CIN I, N= 127	38	30	22	38
CIN II, N= 124	41	33	25	42
CIN III, N= 105	37	35	26	45
Karzinom, N= 12	2	17	2	48
Summe N= 540	146			

Tabelle 13: Nachweis von Punktierungen in Abhängigkeit vom histologischen Befund Für jede histologische Diagnose wurde die Nachweisrate für Punktierungen und das zugehörige Konfidenzintervall berechnet.

Abbildung 16: Konfidenzintervalle für den Nachweis von Punktierungen bei histologisch gesicherten Läsionen



Punktierungen ließen sich bei 146 Patientinnen nachweisen. Mit zunehmendem Schweregrad der Läsionen wurden in mehr Fällen Punktierungen nachgewiesen. Bei 8% der Patientinnen mit Zervizitis und bei 21% mit Metaplasie ließ sich eine Punktierung nachweisen. Bei cervikalen intraepithelialen Neoplasien ließen sich in 30% (CIN I), 33% (CIN II) bzw. in 35 % bei CIN III Punktierungen nachweisen. Wiederum fand sich eine geringe Nachweisrate bei Karzinomen.

9.4.1. Differenzierung einer Punktierung

Punktierungen werden weiter differenziert in feine, mittelgradige und grobe.

Punktierung-Oberfläche	**fein**		**mittel**		**grob**	
	N	**[%]**	**N**	**[%]**	**N**	**[%]**
Zervizitis, N= 5	3		0	0	2	7
Metaplasie, N= 23	19	27	3	6	1	4
CIN I, N= 38	28	39	9	19	1	4
CIN II, N= 41	16	23	20	43	5	18
CIN III, N= 37	5	7	15	32	17	61
Karzinom, N= 2	0	0	0	0	2	7
Summe, N= 146	71	100	47	100	28	100

Tabelle 14: Differenzierung der Punktierungen nach der Oberflächenbeschaffenheit: für jede der untersuchten Oberflächenbeschaffenheiten einer nachgewiesen Punktierung wurde die Verteilung der histologischen Diagnosen dargestellt.

Punktierungen werden weiter differenziert in feine, mittelgradige und grobe. Einer feinen Punktierung liegt in fast 40 % der Fälle eine leichtgradige Dysplasie (CIN I) zugrunde; in 89% eine Metaplasie, CIN I oder CIN II.

Einer mittelgradigen Punktierung liegt in 43 % der Fälle CIN II und in 75% mittel- und schwergradige Läsion zu Grunde.

Eine grobe Punktierung deutet in 61% der Fälle auf schwergradige Dysplasien hin; in 86% der Fälle verbergen sich dahinter mittel-, schwergradige Dysplasien und Karzinome.

9.5. Kombinationen kolposkopischer Befunde

Kolposkopie	kein [%]	E [%]	M [%]	P [%]	E+M [%]	E+P [%]	E+M+P[%]	M+P [%]
Zervizitis,N=63	57	21	0	2	14	5	2	0
Metaplasie,N=109	35	29	3	0	10	12	9	1
CIN I, N= 127	14	43	1	3	12	12	13	2
CIN II, N = 124	11	33	2	1	21	12	19	2
CIN III, N = 105	18	19	0	1	27	16	17	1
Karzinom, N = 12	75	0	0	0	8	8	8	0

Tabelle 15: Kombinationen kolposkopischer Befunde bei unterschiedlicher Histologie: dargestellt ist eine Übersicht über die Kombination der kolposkopischen Befunde essigweißes Areal, Mosaik, Punktierung in Abhängigkeit vom histologischen Befund.

Erläuterung der Abkürzungen:

E= ausschließlich essigweiße Areale

M= ausschließlich Mosaikstrukturen

P= ausschließlich Punktierungen

E+M= gleichzeitiges Auftreten von essigweißem Areal und Mosaikstruktur;

E+P= gleichzeitiges Auftreten von essigweißem Areal und Puntierung

E+M+P= gleichzeitiges Auftreten von essigweißem Areal, Mosaikstruktur und Punktierung

Kein= keiner der 3 auffällligen Befunde essigweißes Areal, Mosaik oder Punktierung.

Mosaikstrukturen und Punktierungen treten selten isoliert auf, die häufigsten Befunde sind essigweiße Areale sowie Kombinationen von essigweißen Arealen mit Mosaiken und Punktierungen.

60 % der Zervizitiden zeigen keinen der auffälligen Befunde Mosaik, Punktierung oder essigweißes Areal. 65% der Metaplasien zeigen

wenigstens einen der untersuchten Befunde, 30% allein ein essigweißes Areal.

Fast 20% der CIN III zeigen keinen der genannten auffälligen Befunde; in 19% der schwergradigen Befunde finden sich nur essigweiße Areale. Der häufigste Befund bei den schwergradigen Läsionen ist eine Kombination aus essigweißen Arealen mit Mosaikstrukturen (27% Der Fälle).

9.6. Kolposkopie

9.6.1. Kolposkopische Beurteilung

Gruppe N bezeichnet unauffällige kolposkopische Befunde, Gruppe M entzündliche Veränderungen. Unter Gruppe O fallen jodnegative Areale; leicht- bzw. schwergradige Befunde werden als Gruppe I bzw. II eingestuft. In Gruppe SI werden Befunde eingeordnet, wenn sie makroskopisch Zeichen für einen Verdacht eines invasiven Wachstums zeigen. Die Gruppe sonstig enthält Patientinnen, bei denen keine Beurteilung möglich war und diejenigen mit fehlenden Diagnosen (Tabelle 16).

Beurteilung	**N [%]**	**M [%]**	**O [%]**	**I [%]**	**II [%]**	**SI [%]**	**sonstig [%]**
Zervizitis, N= 63	5	33	5	35	6	0	16
Metaplasie, N= 109	4	11	11	55	12	0	7
CIN I, N= 127	4	2	5	59	15	0	16
CIN II, N= 124	0	2	2	37	53	1	6
CIN III, N= 105	0	2	0	13	78	1	6
Karzinom, N= 12	0	0	0	0	17	25	58
Summe N= 540	**12**	**39**	**23**	**217**	**186**	**5**	**58**

Tabelle 16: Einschätzung des kolposkopischen Befundes durch den Untersucher: für jede histologische Diagnose wurde die Verteilung der kolposkopischen Beurteilung dargestellt.

9.6.2. Verläßlichkeit der Einschätzung des Untersuchers

Die kolposkopische Beurteilung wurde mit dem Befund der histologischen Diagnostik verglichen. Als korrekt eingestuft gelten:

Gruppe N: unauffälliger Befund

Gruppe M: Zervizitis

Gruppe I: CIN I

Gruppe II: CIN II, CIN III

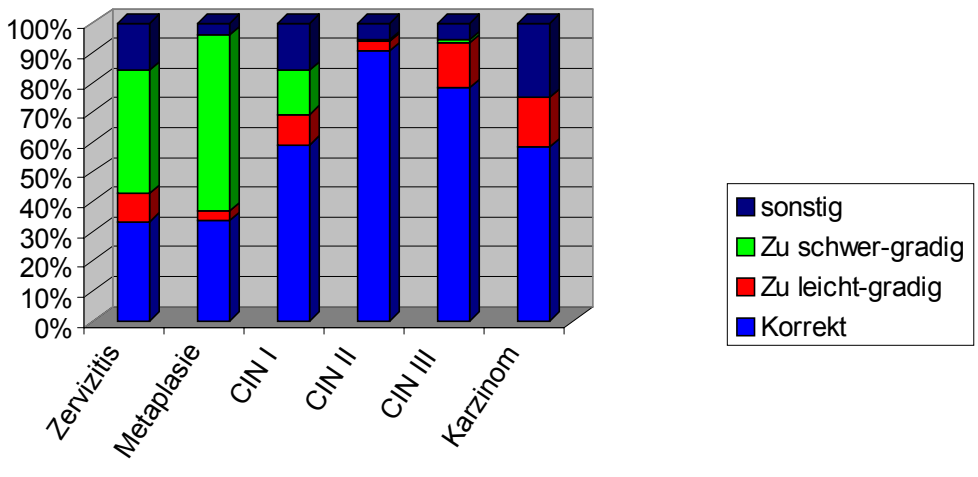
Gruppe SI: Verdacht auf Invasion eines Karzinoms

Sonstig: Beurteilung nicht möglich/ nicht erhobener Befund.

Beurteilung	korrekt [%]	zu leicht-gradig [%]	zu schwer-gradig [%]	sonstig [%]
Zervizitis, N= 63	33	10	41	16
Metaplasie, N= 109	38	4	67	5
CIN I, N= 127	59	10	15	15
CIN II, N= 124	90	3	1	5
CIN III, N= 105	78	15	1	5
Karzinom, N= 12	58	17	0	25
Summe, N= 540				

Tabelle 17: Einschätzung des Untersuchers im Vergleich mit dem histologischen Befund

Abbildung 17: Beurteilung des Untersuchers



33% der Zervizitiden und 38% der Metaplasiefälle wurden korrekt eingruppiert. Bei den Dysplasien waren bei CIN I 59%, bei CIN II 90% korrekt einzustufen, bei CIN III 78%. Mit zunehmendem histologischen Schweregrad war die korrekte Einteilung mittels der Kolposkopie leichter, Zervizitiden und Metaplasien dagegen waren schwierig zu beurteilen.

10. Infektionen mit humanen Papillomaviren

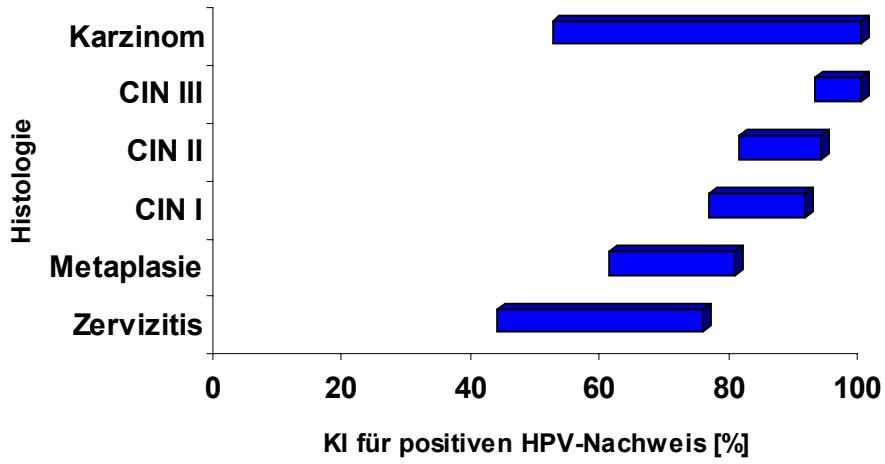
10.1. HPV- Nachweis bei unterschiedlichen histologischen Diagnosen

In vielen Studien konnte nachgewiesen werden, daß bei unterschiedlichem histologischem Befund die Nachweisrate von Papillomaviren ansteigt und bei verschiedenen Diagnosen unterschiedliche HPV- Typen gefunden werden. Deshalb gibt es die Einteilung der Papillomaviren in low, intermediate und high risk.
Wir haben unsere Untersuchungen für die HPV- Typen 6/11, 16, 18, 31, 33, 35, 42, 43, 44, 45, 52, 56 und 58 durchgeführt. Bei 445 (von 540) Patientinnen ist eine Untersuchung der Abstriche von der Cervix uteri auf die Anwesenheit von genomischem Material von Papillomaviren durchgeführt worden.
Zunächst wurde die Infektionsrate bei den unterschiedlichen histologischen Befunden untersucht (Abbildung 18, Tabelle 18).

HPV- Nachweis	positiv		KI für positiv		negativ	
	N	[%]	untere/obere Grenze		N	[%]
Zervizitis, N= 40	24	60	43	75	16	40
Metaplasie, N= 90	64	71	61	80	26	29
CIN I, N= 104	88	85	76	91	16	15
CIN II, N= 110	97	88	81	94	13	12
CIN III, N= 92	90	98	92	99	2	2
Karzinom, N= 9	8	89	52	99	1	11
Summe, N= 445	371	83			74	17

Tabelle 18: Nachweis von HPV- Infektionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund: angegeben ist die relative Häufigkeit für den Nachweis einer HPV- Infektion sowie das Konfidenzintervall für einen positiven Befund

Abbildung 18: Konfidenzintervalle für den positiven Nachweis von HPV-Infektionen in Abhängigkeit vom histologischen Befund



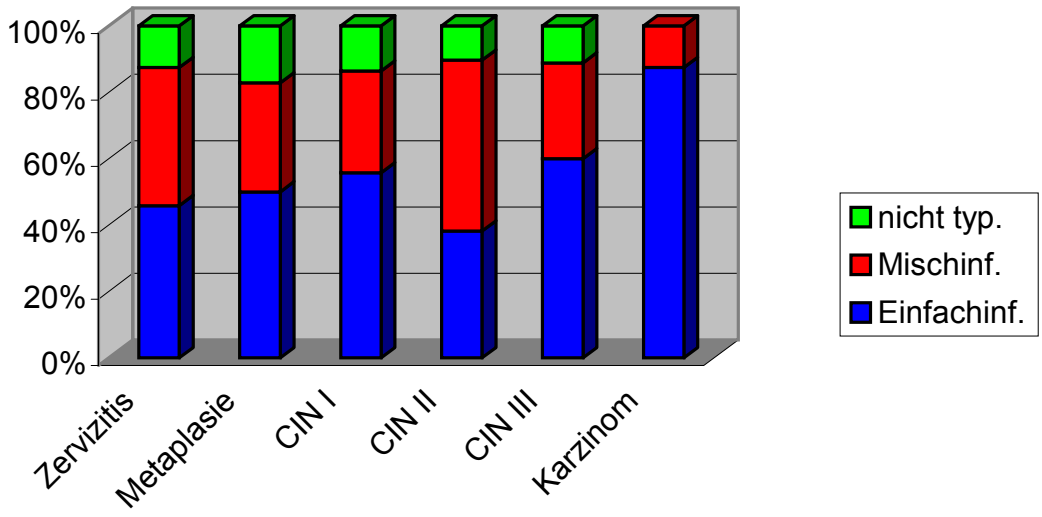
Mit zunehmendem histologischen Schweregrad fanden sich bei mehr Patientinnen Infektionen mit Papillomaviren. Bei 60% der Zervizitisfälle, 71% der Metaplasien, 84% der CIN I, 88% der CIN II und 97,8% der schweren Dysplasien waren Infektionen mit Papillomaviren nachweisbar.

10.1.1. Infektionen unterteilt in Einfach- und Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle

Bei einer Einfachinfektion läßt sich nur ein einziger HPV- Typ nachweisen, bei einer Mischinfektion zwei oder mehr HPV- Typen. Als nicht typisierbar bezeichnet man eine Infektion, wenn sich bei der PCR kein einzelner bekannter Typ nachweisen läßt. Es könnte sich dann um eine Mischung mehrerer Typen in geringer Menge handeln oder um noch unbekannte Typen.

Bei 371 Patientinnen konnten Papillomaviren nachgewiesen werden. Diese HPV- positiven Fälle werden weiter unterteilt in Einfach- und Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle (Abbildung 19, Tabelle 19).

Abbildung 19: Differenzierung der HPV- Infektionen in Einzelinfektionen, Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle



HPV- Nachweis	Einzelinfektion		Mischinfektion		NT	
	N	[%]	N	[%]	N	[%]
Zervizitis, N= 24	11	46	10	42	3	13
Metaplasie, N= 64	32	50	21	33	11	17
CIN I, N= 88	49	56	27	31	12	14
CIN II, N= 97	37	38	50	52	10	10
CIN III, N= 90	54	60	26	29	10	11
Karzinom, N= 8	7	88	1	13	0	0
Summe, N= 371	190	51	135	36	46	12

Tabelle 19: Unterscheidung HPV- positiver Fälle in Einfach- und Mischinfektionen und in nicht typisierbare Fälle

Insgesamt finden sich in 51% der positiven Fälle Einfachinfektionen, also ein einzelner HPV- Typ und in nur 12% konnte der Virustyp nicht benannt werden. Mit zunehmendem Schweregrad sinkt die Rate an Mischinfektionen, die der nicht typisierbaren Fälle bleibt nahezu konstant.

10.1.2. Infektionen mit humanen Papillomaviren bezogen auf die histologische Diagnose

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die bei den einzelnen histologischen Befunden nachgewiesenen HPV- Typen.

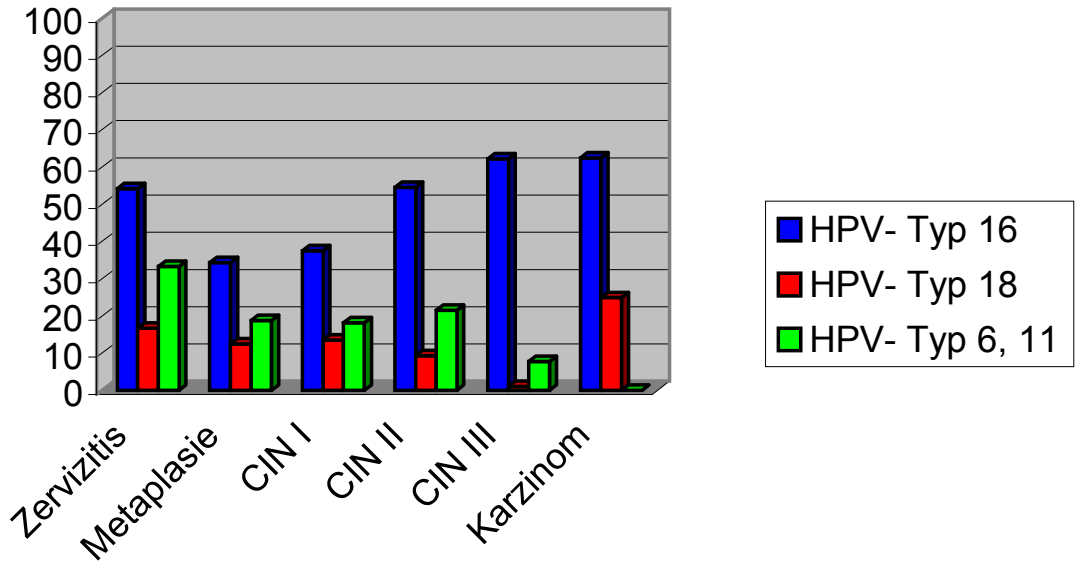
HPV- Typen	16		18		6/ 11		30-er		40-er		50- er	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Zervizitis, N= 24	13	54	4	17	8	33	3	13	4	17	3	13
Metaplasie, N= 64	22	34	8	13	12	19	12	19	18	28	10	16
CIN I, N= 88	33	38	12	14	16	18	13	22	13	15	11	13
CIN II, N= 97	53	55	9	9	21	22	25	26	26	27	9	9
CIN III, N= 90	56	62	1	1	7	8	27	30	11	12	7	8
Karzinom, N= 8	5	63	2	25	0	0	1	13	0	0	1	13
Summe, N= 371	182	49	36	10	64	17	81	22	72	19	41	11

Tabelle 20: Infektionen mit humanen Papillomaviren bezogen auf die histologische Diagnose 30-er: HPV- Typen 31, 33 und 35

40-er: HPV- Typen 41, 42, 44, 45
50-er: HPV- Typen 52, 56.

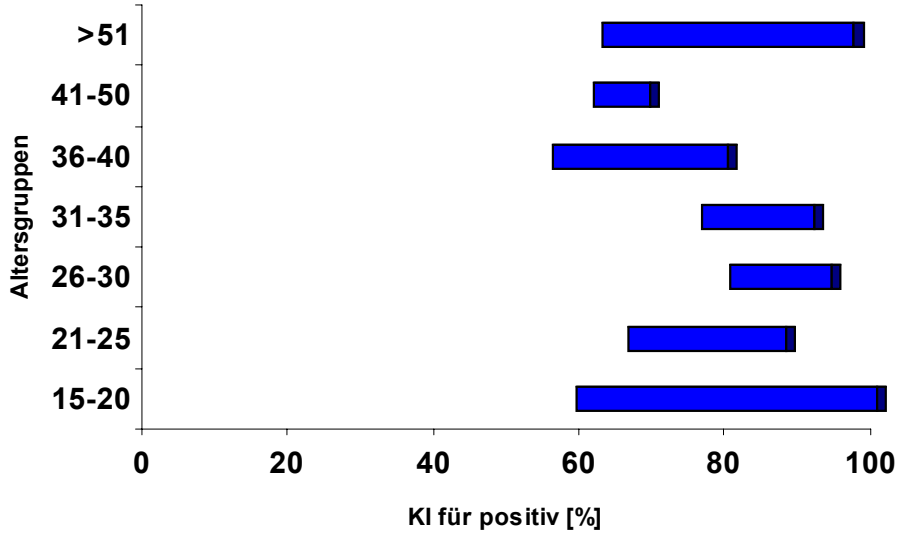
Mit zunehmendem histologischem Schweregrad steigt die Nachweisrate für den HPV-Typ 16; die höchste Nachweisrate für den HPV- Typ 18 fand sich bei den Karzinomen.

Abbildung 20: Übersicht über die Verteilung der HPV- Typen 16, 18 und 6/11 bei den untersuchten histologischen Diagnosen



10.1.3. Infektionen mit humanen Papillomaviren abhängig vom Alter

Abbildung 21: Konfidenzintervalle für HPV- Infektionen in Abhängigkeit vom Alter



Altersgruppe	positiv N	%	Konfidenzintervall für positiv untere/ obere Grenze		negativ N	%
15-20, N= 11	10	91	59	99	1	9
21-25, N= 60	47	78	66	87	13	22
26-30, N=99	87	88	80	94	12	12
31-35, N=98	83	85	76	91	15	15
36-40, N=63	43	68	55	79	20	32
41-50, N=49	37	76	61	69	12	25
>51, N=20	17	85	62	97	3	15

Tabelle 21: Nachweisrate für HPV- Infektionen in unterschiedlichen Altersgruppen

Beim Vergleich der Konfidenzintervalle für den Nachweis von Infektionen mit humanen Papillomaviren zeigt sich in unserem Patientengut insgesamt eine hohe Infektionsrate.

10.1.4. Infektionen mit Papillomaviren abhängig vom Alter

Für jede Altersgruppe wurden die HPV- Infektionen unterteilt nach den HPV- Typen 16, 18, 6/11, 30-er, 40-er und 50-er und der prozentuale Anteil an der jeweiligen Diagnose dargestellt. Es sind in jeder Altersgruppe Mehrfachnennungen möglich (Tabelle 20, Abbildung 24).

HPV- Typen	16	18	30-er	40-er	50-er	6/11	neg.
15-20, N= 11	55	18	27	36	9	46	9
21-25, N= 60	45	3	27	20	5	28	22
26-30, N=99	52	13	20	24	22	16	12
31-35, N=98	48	9	25	19	14	11	15
36-40, N=63	32	5	30	11	5	10	32
41-50, N=49	45	14	12	12	10	14	22
>51, N=20	50	5	25	5	25	10	10

Tabelle 22: Übersicht über die Verteilung der HPV- Infektionen unterteilt nach Altersgruppen (Angaben in %, Mischinfektionen erfaßt, daher Mehrfachnennungen möglich)

Die größte Anzahl an HPV- 16 positiven Fällen befindet sich in der Altersgruppe der 15- 20 Jährigen, die niedrigste bei den 36- 40 Jährigen. Insgesamt ist aber kein Trend erkennbar.

Für den HPV- Typ-18 wie auch für die 40- er Gruppe finden sich die meisten Infektionen in der Altersgruppe der jüngsten Patientinnen; mit zunehmendem Alter lassen sich dann bei weniger dieser Patientinnen diese HPV- Typen nachweisen.

Die HPV- Typen der 30- er Gruppe sind insgesamt eher gleichmäßig über die untersuchten Altersgruppen verteilt.
Für die HPV- Typen 6 und 11 fanden sich die meisten Infektionen in der jüngsten untersuchten Altersgruppe, die niedrigste bei den 36-40 Jährigen.

10.1.5. Nachweis der onkogenen Transkripte E6/ E7

Histologie	E6/E7 positiv	E6/E7 negativ
Unauffällig, N= 6	1	5
Zervizitis, N= 3	0	3
Metaplasie, N= 6	2	4
CIN I, N= 9	6	3
CIN II, N= 22	14	8
CIN III, N= 10	7	3

Tabelle 23: Nachweisrate onkogener Transkripte abhängig von der histologischen Diagnose: Wegen der geringen Fallzahl der einzelnen Untersuchungen wurden lediglich die absoluten Zahlen angegeben, keine Prozentzahlen ausgerechnet.

Mit zunehmendem histologischen Schweregrad nimmt die Nachweisrate der onkogenen Transkripte E6 und E7 zu.

11. Gesonderte Untersuchung bei nicht- dysplastischen Läsionen: Zervizitis

11.1. Zytologie bei Zervizitis (N= 63)

Zytologie	Anzahl	Anteil [%]
Pap II	53	87
Pap III D	5	8
Pap IV a	1	2
Pap III	2	3
Summe	61	100

Tabelle 24: Verteilung der zytologischen Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis

Bei 90 % der Patientinnen konnte zytologisch eine korrekte Diagnose gestellt werden.

11.2. Kolposkopische Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis

Folgende Tabelle zeigt die kolposkopsischen Befunde von den Patientinnen mit histologisch gesicherter Zervizitis.

Beurteilung	Anzahl	Anteil [%]
Gruppe N	3	6
Gruppe 0	3	6
Gruppe M	21	38
Gruppe U	2	4
Gruppe I	22	40
Gruppe II	4	7

Tabelle 25: Kolposkopische Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis.

Bei 55 Patientinnen mit gesicherter Zervizitis ist eine kolposkopische Beurteilung erfaßt worden. 38% der kolposkopischen Diagnosen sind korrekt; 47% sind mit der Eingruppierung in Gruppe I bzw. II zu schwergradig befundet worden.

11.3. HPV- Infektionen bei Zervizitis

Bei 40 Patientinnen ist eine Untersuchung auf Papillomaviren durchgeführt worden. Es konnte in 16 (40%) Fällen keine HPV- DNA nachgewiesen werden. Bei der weiteren Unterteilung der HPV-positiven fanden sich bei 46% Einfachinfektionen, bei 42% Mischinfektionen.

12. Überweisungsdiagnose „Kontaktblutungen“

Bei Patientinnen, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden waren, wurden bei jeder Patientin Abstriche für die zytologische Untersuchung entnommen und bei verdächtigem kolposkopischen Befund eine Biopsie für die histologische Untersuchung entnommen.

12.1. Zytologische Befunde

Bei jeder Patientin, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden war, wurde zytologisch die Diagnose Pap II gestellt.

12.2. Kolposkopische Beurteilung

Bei 17 Patientinnen mit Kontaktblutungen ist eine kolposkopische Beurteilung dokumentiert.

Kolposkopie	Anzahl	Anteil [%]
Gruppe N	1	6
Gruppe M	14	82
Gruppe I	1	6
Gruppe SI	1	6
Summe	17	100

Tabelle 26: Kolposkopische Beurteilung bei Patientinnen, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden waren.

12.3. Histologische Diagnose bei Kontaktblutungen

Bei 21 Patientinnen, die Kontaktblutungen hatten, wurde zur Diagnosestellung eine Biopsie entnommen.

Histologie	Anzahl	Anteil [%]
Unauffällig	2	10
Virusverdacht	2	10
Polyp	1	5
Zervizitis	8	38
Metaplasie	7	33
CIN I	1	5
Summe	21	101

Tabelle 27: histologische Befunde bei Patientinnen, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden waren.

IV. Diskussion

1247 Patientinnen wurden zwischen Januar 1996 und Juni 1999 wegen auffälliger zytologischer und histologischer Befunde oder wegen unterschiedlicher Beschwerden von niedergelassenen Gynäkologen in die Sprechstunde „Kolposkopie“ der Universitätsfrauenklinik überwiesen. Bei 540 wurde jeweils eine der Diagnosen „Zervizitis“, „Metaplasie“, „CIN I“, „CIN II“, „CIN III“ (Cervikale Intraepitheliale Neoplasie) oder „Zervixkarzinom“ gestellt. In die statistischen Untersuchungen gingen Daten dieser Patientinnen ein.

13. Alter bei Diagnosestellung

Patientinnen mit Zervizitis sind im Median 37 Jahre (25%/75% Quantil 31/45) alt. Der Median der Patientinnen mit der histologischen Diagnose Metaplasie liegt bei 32 Jahren (28/ 40). Patientinnen mit leichter cervikaler intraepithelialer Neoplasie sind im Median 33 Jahre (28/ 38), diejenigen mit mittelschwerer Dysplasie 30 Jahre (26/ 36) und diejenigen mit schwergradiger Dysplasie 33 Jahre (28/ 39). Patientinnen mit CIN sind im Median 12 Jahre jünger als die, bei denen ein Karzinom diagnostiziert wurde (36/ 63).

Patientinnen mit cervikaler intraepithelialer Neoplasie sind im Median 33 Jahre alt; Patientinnen mit einer Zervizitis sind etwa 4 Jahre, jene mit einem gesicherten Zervixkarzinom sind 10 Jahre älter.

14.Kolposkopisch auffällige Befunde

14.1. Relative Häufigkeit des kolposkopischen Befundes „essigpositives Areal“ bezüglich des histologischen Befundes

Mit zunehmendem histologischen Schweregrad nimmt die Anzahl nachgewiesener essigpositiver Reaktionen zu, doch die niedrigste Nachweisrate findet sich bei den Patientinnen mit Zervixkarzinom. 41 % der Zervizitiden (KI: 30- 54), 65 % der Metaplasien (KI: 55- 74) sowie etwa 83 % der zervikalen intraepithelialen Dysplasien (KI: CINI: 73- 88; CIN II: 78- 91; CIN III: 71- 87) weisen essigpositive Areale auf; bei einem Zervixkarzinom sind essigpositive Areale nur in 25% (KI: 6- 57) nachweisbar. Beim Vergleich der Konfidenzintervalle findet sich keine Überschneidung der Intervalle zwischen Zervizitis und Metaplasie, CIN I/ CIN II/ CIN III. Damit besteht ein sichtbarer Unterschied, der die Zervizitis von diesen 4 Diagnosen trennt, aber nicht vom Karzinom. Bei den 4 Diagnosen Metaplasie/ CIN I/ CIN II/ CIN III überschneiden sich die Intervalle, hier besteht also kein Unterschied. Essigweiße Reaktionen deuten eher auf Metaplasie und cervikale intraepitheliale Neoplasien hin, aber für diese besteht kein sicherer Unterschied.

Wegen der geringen Fallzahl ist das Konfidenzintervall für das Karzinom sehr groß, es überschneidet sich mit dem der Zervizitis, läßt sich aber von den zervikalen intraepithelialen Neoplasien trennen.

14.1.1. Differenzierung der essigpositiven Reaktion

Essigpositive Areale werden weiter differenziert: Man untersucht die

Farbreaktion, die Oberflächenbeschaffenheit und die Begrenzung der Läsionen.

Farbreaktion

Bei der Reaktion auf essigsäurehaltige Lösung unterscheiden wir die Farben glänzend- weiß und stumpf- gräulich.
59% der stumpf- gräulichen Areale zeigen histologisch leicht- mittelschwere Dysplasien; 66% der glänzend- weißen Areale entsprechen histologisch mittel- schwergradigen Dysplasien. Somit weisen glänzend- weiße Areale auf schwergradigere Läsionen hin. Diese Unterscheidung der Farbreaktion nach Essigsäureapplikation zeigt signifikante Unterschiede.
Bei der kolposkopischen Untersuchung gelten weißes Epithel und weiße Plaques als auffällig; als Hinweiszeichen für ein Karzinom gelten blumenkohlartige essigweiße Reaktionen und erhabene Veränderungen.
In einer großen Untersuchung bei 10934 Frauen konnte durch eine auffällige Reaktion auf essigsäurehaltige Lösung eine mit der zytologischen Diagnostik vergleichbare Anzahl an auffälligen Patientinnen entdeckt werden (University of Zimbabwe, 1999).
Eine unauffällige Zervix hat keine essigweißen Areale. Leicht weißliche Areale nach Essigsäureapplikation deuten auf leichtgradige Veränderungen hin, kräftig weiße auf schwergradige Befunde (Belinson et al., 2001).

Oberfläche einer essigpositiven Läsion

Bei einem essigweißen Areal wird die Oberfläche beschrieben als

flach, erhaben oder papillär.
Flachen Läsionen liegt histologisch in 32% der Fälle eine leichtgradige Dysplasie zu Grunde, in 10% eine schwergradige Dysplasie.
Erhabene Läsionen entsprechen zu 50% histologisch CIN III und zu 79% mittel- und schwergradigen Läsionen.
Papilläre Läsionen entsprechen zu 44% CIN I und in 22% der Fälle mittelgradigen Dysplasien. Eine papilläre Oberfläche konnte nicht bei schwergradigen Läsionen nachgewiesen werden.
Erhabene Läsionen weisen auf schwergradige Läsionen hin.
Eine irreguläre Oberfläche gilt als ein Hinweiszeichen für ein Karzinom (Belinson et al., 2001).

Begrenzung eines essigpositiven Areals

Die Begrenzung eines essigpositiven Areals wird beschrieben als scharf oder unscharf.
57% der scharf begrenzten essigpositiven Areale entsprechen histologisch mittel- und schwergradigen Dysplasien, unscharfe in 65% leicht- mittelgradigen Dysplasien.
Bei unserem Patientengut konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, es zeigt sich aber ein Trend, daß eher die scharf begrenzten essigpositiven Läsionen auf höhergradige Veränderungen hinweisen.
Schwergradige Veränderungen haben scharfe Ränder (Belinson et al., 2001).

Areale, die auf Applikation von Essigsäure positiv reagieren, sind eher als verdächtig einzustufen, wenn sie von glänzend- weißer Farbe sind, eine erhabene Oberfläche vorweisen und/ oder wenn sie eine scharfe Randbegrenzung haben.

14.2. Mosaik

Bei 16% (95% KI: 8 -27) der histologisch gesicherten Zervizitiden läßt sich eine Mosaikstruktur nachweisen, bei Metaplasien sind es 24% (95% KI: 16- 33%). 28% (95% KI: 20- 36%) der leichtgradigen Dysplasien sowie jeweils ca. 44% der mittel- (95% KI: 35- 53%) und schwergradigen (95% KI: 35- 55%) Dysplasien haben kolposkopisch nachweisbare Mosaikstrukturen.

Die Konfidenzintervalle von den histologischen Diagnosen Zervizitis, Metaplasie und CIN I überschneiden sich, wie auch die Intervalle von CIN II und CIN III. Deutlich unterscheiden sich die Konfidenzintervalle für Zervizitis/ Metaplasie/ CIN I von denen von CIN II und CIN III. Wie auch schon bei den essigweißen Arealen nachgewiesen, steigt die Anzahl der Nachweisrate mit zunehmendem Schweregrad. Wegen der geringen Fallzahl der Karzinome ist das Konfidenzintervall hier sehr groß und hilft deshalb nicht bei der Unterscheidung.

Väyrynen et al. verglichen bei 271 Patientinnen kolposkopische Auffälligkeiten mit zytologischen und histologischen Befunden. Bei unauffälliger Kolposkopie konnten in 80% histologisch unauffällige Befunde diagnostiziert werden. Ließ sich jedoch ein Mosaik nachweisen, sank die Rate unauffälliger histologischer Befunde auf 55%. Bei 28% konnten leichtgradige Läsionen nachgewiesen

werden, bei je 7% eine mittel- bzw. schwergradige Läsion und bei einer Patientin ein Carcinoma in situ (Väyrynen et al., 1985).

Oberflächenbeschaffenheit des Mosaiks

Einem groben Mosaik liegt in 65% der Fälle eine schwergradige histologische Läsion (CIN III) zugrunde, in 81% mittel und schwergradige Läsionen. Ein mittelgradiges Mosaik zeigt in 51% der Fälle eine mittelschwere Läsion (CIN II) und in 90% leicht- bis schwergradige histologische Läsionen. Ein feines Mosaik deutet in je ca. 25 % der Fälle auf eine Metaplasie oder CIN I oder CIN II hin.
Grobe und mittlere Mosaikstrukturen deuten auf eher schwergradige Läsionen hin, ein feines Mosaik ist eher unspezifisch. Es sind lediglich Trends erkennbar, keine signifikanten Unterschiede.

14.3. Punktierung

Mit zunehmendem Schweregrad der Läsionen wurden in mehr Fällen Punktierungen nachgewiesen. Bei 8% (95%KI: 3- 18) der Patientinnen mit einer Zervizitis und bei 21% (95%KI: 14-30) mit einer Metaplasie ließ sich eine Punktierung nachweisen. Bei cervikalen intraepithelialen Neoplasien ließen sich in 30% (CIN I, 95%KI 22- 39%), 33% (95%KI: CIN II 25- 42) und in 35 % (95%KI 26- 45%) bei CIN III Punktierungen nachweisen.
Deutliche Unterschiede fanden sich beim Vergleich der Konfidenzintervalle von Zervizitis und zervikalen intraepithelialen Neoplasien. Bei diesen Diagnosen findet sich keine Überschneidung der Konfidenzintervalle, dies deutet auf einen statistisch relevanten

Unterschied für das Auftreten von Punktierungen bei verschiedenen histologischen Diagnosen hin.
Väyrynen et al. konnten bei 65% der Punktierungen histologisch unauffällige Befunde nachweisen, bei 29% CIN I- CIN II sowie in einem Fall eine schwergradige Dysplasie (Väyrynen et al., 1985).

Differenzierung einer Punktierung

Einer feinen Punktierung liegt in fast 40 % der Fälle eine leichtgradige Dysplasie zugrunde; in 89% finden sich Metaplasie, CIN I oder CIN II.
Einer mittelgradigen Punktierung liegt in 42 % der Fälle CIN II und in 75% mittel- und schwergradige Läsionen zu Grunde.
Eine grobe Punktierung deutet in 61% der Fälle auf schwergradige Dysplasien hin; in 86% der Fälle verbergen sich dahinter mittel-, schwergradige Dysplasien und Karzinome.
Bei der Unterscheidung der Struktur einer Punktierung ist insgesamt ein Trend erkennbar, kein signifikanter Unterschied.

14.4. Kombinationen der kolposkopischen Befunde essig-positive Areale, Mosaikstrukturen und Punktierungen

57% der Zervizitiden zeigen kolposkopisch keinen der kolposkopisch als auffällig eingestuften Befunde essigweißes Areal/ Mosaik/ Punktierung. 21% weisen essigweiße Areale, 14 % essigweiße Areale und gleichzeitig Mosaike auf.
35% der Patientinnen mit Metaplasie haben keinen auffälligen kolposkopischen Befund; der häufigste nachgewiesene auffällige Befund ist (29%) ist das essigweiße Areal. 10% haben

Kombinationen aus essigweißen Arealen und Mosaikstrukturen, 12% essigweiße Areale und Punktierungen.
14% der CIN I, 11% der CIN II und 18% der CIN III haben keinen der kolposkopisch auffälligen Befunde: essigweißes Areal, Mosaik oder Punktierung. Die meisten auffälligen Befunde bei CIN I und CIN II sind essigweiße Areale, bei CIN III mit 27% die Kombination essigweißer Struktur und Mosaik.
Bei 75% der Karzinome findet sich keiner der genannten auffälligen Befunde. Somit sind diese kolposkopischen Befunde nicht geeignet, Karzinome zu entdecken.
Mit zunehmendem histologischen Schweregrad sinkt der Anteil der Patientinnen, bei denen sich bei der kolposkopischen Untersuchung kein auffälliger Befund nachweisen ließ, davon auszuschließen sind die Karzinome, bei denen nur bei 25% einer der Befunde vorzufinden war. Mit zunehmendem histologischen Schweregrad steigt der Anteil an Kombinationen kolposkopischer Befunde; nur 1,6% der Zervizitiden, aber 18% der CIN II bzw. 17% der CIN III haben essigweiße Areale, Mosaike und Punktierungen.
Auf schwergradige Befunde weisen essigweiße Strukturen und Mosaike hin.

14.5. Kolposkopisch schwergradige Befunde

Areale, die auf Applikation von Essigsäure positiv reagieren, sind eher als verdächtig einzustufen, wenn sie von glänzend- weißer

Farbe sind, eine erhabene Oberfläche aufweisen oder wenn sie eine scharfe Randbegrenzung haben.
Wie auch schon bei den essigweißen Arealen nachgewiesen steigt die Anzahl der Nachweisrate an Mosaikstrukturen mit zunehmendem Schweregrad aber auch bei dem Befund Mosaik finden sich die niedrigsten Nachweisraten bei Karzinomen. Grobe und mittlere Mosaikstrukturen deuten auf eher schwergradige Läsionen hin, ein feines Mosaik ist eher unspezifisch.
Eine grobe Punktierung deutet auf schwergradige Dysplasien hin.
Auf schwergradige Befunde weist eine Kombination von essigweißen Strukturen und Mosaike hin.

14.6. Kolposkopische Beurteilung

33% der Zervizitiden und 38% der Metaplasiefälle wurden korrekt eingruppiert. Bei den Dysplasien waren bei CIN I 59%, bei CIN II 90% korrekt einzustufen, bei CIN III 78%. Mit zunehmendem histologischen Schweregrad war die korrekte Einteilung mittels der Kolposkopie leichter, Zervizitiden und Metaplasien dagegen waren schwierig zu beurteilen, beide wurden meist als Gruppe I eingestuft.

Kirkegaard et al. untersuchten bei 813 Patientinnen, wieviele korrekte Diagnosen mittels Zytologie und Kolposkopie gestellt werden konnten. Bei leichtgradigen Läsionen waren 78% der kolposkopischen Befunde und 85% der zytologischen korrekt, bei den schwergradigen 65% der kolpokopischen und 41% der zytologischen. Die Kombination von Zytologie und Kolposkopie

ergab 77% bzw. 75% korrekte Diagnosen bei leicht- bzw. schwergradigen Läsionen (Kirkegaard et al., 1994).

Menton et al. verglichen die Ergebnisse zytologischer und kolposkopischer Befunde.
Die Sensitivität der Kolposkopie war im Vergleich zur Zytologie signifikant höher, auch zeigen sich im bezug auf den histologischen Befund bei der Kolposkopie bessere Übereinstimmungen als bei der Zytologie (Menton et al., 1998).

15. Infektionen mit humanen Papillomaviren

Mit zunehmendem histologischen Schweregrad fanden sich bei mehr Patientinnen Infektionen mit Papillomaviren. Bei 60% (KI: 43- 75) der Zervizitisfälle, 71% (KI: 61- 80) der Metaplasien, 85% (KI: 76- 91) der CIN I, 88% (KI: 81- 94) der CIN II und 98% (KI: 92- 98) der schwergradigen Dysplasien waren Infektionen mit Papillomaviren nachweisbar. Bei 89% (KI: 52- 100) der Karzinome ließen sich Papillomaviren nachweisen.
Die Konfidenzintervalle für HPV- Infektionsraten von Zervizitis und cervikalen intraepithelialen Neoplasien überschneiden sich nicht; dies deutet auf einen statistisch relevanten Unterschied zwischen diesen Diagnosen hin. Wegen der geringen Fallzahl an Zervixkarzinomen in diesem Patientengut ist das entsprechende Konfidenzintervall sehr groß.

Sotlar et al. untersuchten bei histologisch bekannter Diagnose die Prävalenz von HPV- Infektionen. Alle (4/4) invasiven Karzinome

sowie alle schwergradigen Läsionen (7/7), 95% der CIN II, 90% der CIN I sowie 76% der nicht- dysplastischen Veränderungen waren positiv für Infektionen mit humanen Papillomaviren. Diese Zahlen zeigen, daß schon leichtgradige Läsionen zu einem nicht kleinen Prozentanteil HPV- positiv sind; mit zunehmendem Schweregrad steigt diese Nachweisrate an (Sotlar et al., 1998).

Fuchs et al. untersuchten bei histologisch gesichertem Befund an 362 Biopsien mittels Western Blot die Nachweisrate für HPV- DNA der Virustypen 6, 10, 11, 16, 18, 31 und 33. Er konnte zeigen, daß mit zunehmendem histologischen Schweregrad die Nachweisrate für Infektionen mit humanen Papillomaviren steigt. Bei CIN I fand er 40% positive Fälle, bei CIN III 56 und bei invasiven Karzinomen 68%. Diese Zahlen sind niedriger als unsere, weil nur 7 Typen untersucht wurden, es läßt sich aber die gleiche Tendenz feststellen (Fuchs et al.,1988).

Torroella-Kouri führte bei 200 jungen Frauen kolposkopische Untersuchungen durch. Bei auffälligen Befunden wurden Biopsien zur histologischen Diagnostik entnommen, sowie eine HPV- PCR durchgeführt. 87% der invasiven Karzinome und 83% der schwergradigen Läsionen waren HPV- positiv. Dies entspricht unseren Zahlen; in unserem Patientengut sind jedoch 85% der leichtgradigen Läsionen HPV- positiv, während es in der Untersuchung von Torroella-Kouri nur 33% sind. Dies könnte sich dadurch erklären, daß sich unsere Patientinnen wegen bekannter auffälliger Befunde vorstellten, die Studie von Torroella-Kouri aber auch Patienten einbezieht, die zur Routinekontrolle kommen (Torroella-Kouri, 1998).

Unsere Patientinnen sind vorselektioniert und erlauben keine Aussagen über Prävalenz von HPV- Infektionen.

Riou et al. untersuchten bei 106 invasiven Karzinomen der Cervix uteri die Nachweisrate von Papillomaviren. Bei 84% der Karzinome (untersucht wurden die HPV- Typen 6/11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42) konnte HPV- DNA nachgewiesen werden. Außerdem fand man eine höhere Metastasierungsrate sowie eine höhere Rekurrenzrate bei HPV- negativen Karzinomen. Dies könnten Karzinome sein, die unabhängig von einer Infektion mit Papillomaviren entstanden sind. Es kann auch das Virus in einem frühen Stadium der Erkrankung nötig sein, dann aber könnte der maligne Zustand auch ohne das Virus bestehen bleiben (Riou et al., 1990).
Cornelissen et al. untersuchten in 137 Biopsaten mittels PCR das Vorhandensein der HPV- Typen 6/11, 16, 18, 31 und 33. Bei CIN I war in 68% HPV- DNA nachweisbar, bei CIN II und CIN III 81 % bzw. 90 % (Cornelissen et al., 1992).
In unserem Patientengut waren 38% der CIN I HPV-16 positiv, 55% der CIN II und 62 % der CIN III.
Bei Cornelissen et al. war der HPV- Typ 16 bei CIN I in 21 % vorhanden, bei CIN II und III je in 50 % (Cornelissen et al., 1992).

15.1. Differenzierung der HPV- positiven Fälle

Bei allen HPV- positiven Fällen wurde untersucht, ob es sich um eine Infektion mit nur einem Typ handelt, oder um eine Mischinfektion aus mehreren HPV- Typen.

Insgesamt fanden sich bei 51% der positiven Fälle Einfachinfektionen, also ein einzelner HPV- Typ und in nur 12% konnte der Virustyp nicht benannt werden. Mit zunehmendem Schweregrad sinkt die Rate an Mischinfektionen, die der nicht typisierbaren Fälle bleibt nahezu konstant (11- 17%), beim Zervixkarzinom aber gab es keine nicht zu typisierende Infektion.
Mit zunehmendem histologischen Schweregrad lassen sich mehr Infektionen mit nur einem Virustyp nachweisen. Die höchste Rate an nicht typisierbaren Fällen findet sich bei den Metaplasien, die höchste Rate an Mischinfektionen bei mittelgradigen Dysplasien.
Metaplasien waren nur in 20% HPV- positiv.
Konno et al. untersuchten bei 194 Patientinnen mit mittel-schwergradigen Dysplasien (119 CIN II, 75 CIN III) die HPV-Prävalenz (Typen 6, 11, 16, 18, 33, 52b, 58). 53% der mittelschweren Dysplasien sind HPV- positiv sowie 43% der CIN III (Konno et al., 1998).
Unsere Zahlen sind höher (CIN II: 88%, CIN III: 98%), wohl auch, weil wir bei unseren Untersuchungen noch mehr HPV- Typen untersuchen.

Fuchs et al. untersuchten bei 362 Patientinnen bei bekanntem histologischen Befund die Nachweisrate für die HPV- Typen 6, 11, 16, 18, 31 und 33. 36% der CIN I, 40% der CIN II und 56% der schwergradigen Dysplasien waren positiv für eine HPV- Infektion. Mit zunehmendem histologischen Schweregrad steigt die Nachweisrate für die HPV- Typen 16 und 18, die für HPV- 6/11 fällt nach einem Maximum bei der leichtgradigen Dysplasie ab (Fuchs et al., 1988).

Fuchs et al. konnten bei 68% der invasiven Karzinome HPV- DNA nachweisen, 66% aller HPV-positiven Karzinome waren mit HPV- 16 assoziiert (Fuchs et al., 1988).

Londesborough et al. untersuchten bei 258 Frauen, die wegen leichter und mittelschwerer zytologischer Veränderungen überwiesen worden waren, die Prävalenz von Infektionen mit den onkogenen Papillomavirustypen 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58 (Londesborough et al., 1996).

Von 194 leichtgradigen Veränderungen waren 26 % positiv für onkogene Papillomaviren, von 64 mittel- schwergradigen Dysplasien waren 75% positiv für onkogene HPVs (Londesborough et al., 1996).

Die häufigsten gefundenen Typen waren HPV- Typ 16 bei 32%, Typ 31 bei 25%, Typ 18 bei 6%; der Papillomavirus Typ- 16 ließ sich häufiger in höhergradigen als in leichtgradigen Läsionen (42% bzw. 24%) nachweisen. Im Kontrast dazu sank mit zunehmendem Schweregrad die Nachweisrate für die Typen 18 und 31. In 9% der leichtgradigen Veränderungen konnte HPV-18 nachgewiesen werden, in 30% HPV-31. Bei den schwergradigen sank die Nachweisrate auf 3% bei HPV-18 bzw. auf 18% für HPV-31 (Londesborough et al., 1996).

In unserer Untersuchung fanden sich ähnliche Tendenzen.

Die höchste Nachweisrate für HPV-16 fand sich bei mittel- (55%) und schwergradigen (62%) Läsionen, die höchste Infektionsrate mit HPV-18 (14%) bei leichtgradigen Läsionen.

15.2. Infektionen mit Papillomaviren abhängig vom Alter

Für jede Altersgruppe wurden die HPV- Infektionen unterteilt nach den HPV- Typen 16, 18, 6/11, 30-er, 40-er und 50-er und der prozentuale Anteil für die jeweilige Altergruppe dargestellt. Es sind jeweils Mehrfachnennungen möglich.

Die höchste Nachweisrate für eine Infektion mit Papillomaviren fand sich bei unseren Patientinnen in der Altersgruppe der 15- 20-Jährigen, die niedrigste bei den 36- 40 Jährigen. Ein signifikanter Unterschied besteht nur im Vergleich der Infektionsraten der 41- 50-jährigen mit den 26- 35- jährigen Patientinnen; die ältere Altersgruppe hat signifikant weniger Infektionen. Wegen geringer Fallzahlen sind die Konfidenzintervalle groß und überschneiden sich bei den übrigen Altersgruppen.

Konno et al. untersuchten bei 194 Patientinnen den Verlauf der Befunde sowie die Nachweisrate für Infektionen mit Papillomaviren. Die höchsten Nachweisraten für Infektionen fanden sich in der Altersgruppe der 30- bis 39- Jährigen (Konno et al., 1998).

De Villiers et al. führten an 11667 Frauen eine Studie durch und untersuchten bei bekanntem zytologischen Befund die Abstriche auf die Anwesenheit von Papillomavirus- DNA: Die Nachweisrate für HPV- Infektionen sinkt mit zunehmendem Alter: bei unauffälliger Zytologie fanden sich bei den unter 55-jährigen bei 34% HPV- DNA, bei den über 55- jährigen dagegen nur bei 9%. Dies könnte mit geringerer Exposition für Reinfektionen der älteren Patientinnen zusammenhängen, mit hormonalen Veränderungen oder eventuell mit einer geringeren Zellzahl, die für die Untersuchung zur Verfügung stand. Bei CIN oder karzinomverdächtigen zytologischen

Abstrichen war die HPV- Prävalenz unabhängig vom Alter bei ca. 24% (de Villiers et al., 1992).
Diese im Vergleich zu unseren Zahlen geringe Rate HPV- positiver Befunde bei den älteren Patientinnen läßt sich dadurch erklären, daß in unserer Sprechstunde Patientinnen mit auffälligen Befunden vorgestellt werden und sich diese Zahlen deshalb nicht mit den Zahlen einer Screening- Untersuchung vergleichen lassen können.

15.3. Nachweis der onkogenen Transkripte E6 und E7 in Abhängigkeit von der histologischen Diagnose

In unserem Patientengut ließen sich mit zunehmendem histologischen Schweregrad in mehr Fällen die onkogenen Transkripte E6 und E7 nachweisen.
Sotlar et al. untersuchten die Häufigkeit der onkogenen Transkripte E6/E7 des HPV- Typs 16 bei histologisch gesicherter Diagnose. Bei 3 untersuchten invasiven Karzinomen und 3 schwergradigen Läsionen waren alle positiv für die onkogenen Transkripte; auch 82% der CIN II zeigten positive Signale, aber nur 50 % der untersuchten CIN I und leichtergradigen Befunde (Sotlar et al., 1998).
Rose et al. untersuchten 28 Hysterektomieptäparate auf das Vorhandensein der onkogenen Transkripte E6 und E7. Bei jedem der 18 Zervixkarzinome konnten beide Transkripte nachgewiesen werden, jedoch bei keiner der Patientinnen der Kontrollgruppe, die bezüglich Erkrankungen der Zervix eine unauffällige Anamnese aufwiesen und aus anderen Gründen hysterektomiert wurden (Rose et al., 1995).

Fujii et al. untersuchten bei zytologisch bzw. histologisch gesicherten Diagnosen, ob die onkogenen Transkripte E6/E7 nachweisbar waren. 27% der histologisch als unauffällig befundeten Biopsien waren E6/E7 positiv, 43% der CIN III. Mit zunehmendem histologischen Schweregrad konnten in mehr Fällen diese Transkripte nachgewiesen werden, aber auch schon bei histologisch und zytologisch unauffälligen Befunden waren diese Transkripte nachweisbar, wie bei 9% der als Pap I und Pap II eingruppierten. Die Persistenz transkribierend aktiver Viren könnte ein Schlüsselfaktor in der Progression der Erkrankung sein (Fujii et al., 1995)

16. Gesonderte Untersuchung bei nicht- dysplastischen Läsionen: Zervizitis

Bei der als benigne eingestuften Zervizitis wollten wir eine genaue Untersuchung durchführen und haben dafür nach histologisch gesicherter Diagnose bei diesen 63 Patientinnen kolposkopische und zytologische Befunde erhoben sowie bei den Abstrichen eine PCR zum Nachweis von Papillamoviren durchgeführt.

Bei 87 % der Patientinnen konnte zytologisch die Diagnose Pap II gestellt werden.

Bei 55 von 63 Patientinnen mit gesicherter Zervizitis ist eine kolposkopische Beurteilung erfaßt worden. 38% der kolposkopischen Diagnosen waren korrekt; 47% sind mit der Eingruppierung in Gruppe I bzw. II zu schwergradig befundet worden.

17. Gesonderte Untersuchung bei der Überweisungsdiagnose „Kontaktblutung“

Bei jeder Patientin, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden war, wurde ein Abstrich für die zytologische Untersuchung abgenommen und bei verdächtigem kolposkopischen Befund eine Biopsie für die histologische Untersuchung entnommen.
Bei jeder Patientin, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden war, wurde zytologisch die Diagnose Pap II gestellt.
Bei 21 Patientinnen, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden waren, wurde zur Diagnosestellung eine Biopsie entnommen.
Bei 8 (38%) Patientinnen wurde eine Zervizitis diagnostiziert, bei 7 (33%) eine Metaplasie. Je 2 Patientinnen hatten unauffällige Befunde bzw. Zeichen einer Virusinfektion. Bei einer Patientin wurde ein Polyp diagnostiziert. In unserem Patientengut war die schwergradigste Diagnose in dieser Gruppe eine leichtgradige cervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN I).

Kolposkopische Beurteilung

Bei 17 Patientinnen mit Kontaktblutungen ist eine kolposkopische Beurteilung dokumentiert. 6% wurden als unauffällig eingestuft, 82% zeigten entzündliche Veränderungen. Der schwergradigste Befund war bei einer Patientin ein Verdacht auf Invasion, Gruppe FI. Insgesamt (bei recht kleiner Fallzahl) ist die Diagnose Kontaktblutung kein sicherer Hinweis auf eine maligne Veränderung. Shalini et al. untersuchten retrospektiv, welche zytologischen, kolposkopischen und histologischen Befunde bei 110 Patientinnen,

die wegen Kontaktblutungen eine Klinik für Kolposkopie aufgesucht hatten, gefunden worden waren.

Zytologisch zeigten sich bei 70% der Patientinnen unspezifische Entzündungen, leichtgradige Veränderungen bei 9 %, schwergradige Veränderungen bei 2% und bei 3,6% ein invasives Karzinom. Bei 36 Patientinnen mit auffälliger Portio wurden Biopsien entnommen. Bei 16% aller Patientinnen konnte histologisch eine chronische Zervizitis nachgewiesen werden, bei 3 % CIN I, bei je 2% CIN II oder CIN III und in 6 % ein invasives Karzinom. Bei der kolposkopischen Untersuchung hatten 67 % der Patientinnen eine unauffällige Transformationszone, 30 % eine atypische Transformationszone.

Bei 110 Patientinnen mit Kontaktblutungen konnte die Arbeitsgruppe histologisch 6 invasive Karzinome nachweisen, bei 2 von diesen 6 Patientinnen war dieses auch kolposkpisch diagnostiziert worden (Shalini et al., 1998).

In unserem Patientengut war der schwergradigste Befund CIN I.

V. Zusammenfassung

Zwischen Januar 1996 und Juni 1999 wurden 1247 Patientinnen von niedergelassenen Gynäkologen wegen auffälliger zytologischer und histologischer Befunde oder wegen unterschiedlicher Beschwerden in die Sprechstunde „Kolposkopie“ der Universitätsfrauenklinik Tübingen überwiesen.
Untersucht wurden die Befunde der 540 Patientinnen, bei denen sich histologisch eine der Diagnosen Zervizitis, Metaplasie, CIN I, CIN II, CIN III oder Karzinom der Cervix uteri ergeben hatte.

Kolposkopische Befunde bei schwergradigen Läsionen:

Wir wollten darstellen, welche kolposkopischen Befunde auf schwergradige Läsionen hinweisen. Dabei untersuchten wir die kolposkopischen Befunde essigweißes Areal, Mosaikstrukturen und Punktierungen.
Auf schwergradige histologische Befunde deuten Bereiche hin, die nach Essigsäureapplikation glänzend- weiß erscheinen, sowie Areale, die eine erhabene Oberfläche vorweisen. Bei Betrachtung der Randbeschaffenheit zeigte sich, daß eine scharfe Begrenzung eines essigweißen Areals häufiger bei histologisch schwergradigen Befunden auftritt.
Grobe und mittlere Mosaikstrukturen wie auch grobe Punktierungen deuten auf schwergradige Läsionen hin.
Einen Unterschied konnten wir für die Farbreaktion nach Essigsäureapplikation nachweisen, für die übrigen kolposkopischen Befunde ist jeweils ein Trend erkennbar.

Molekularbiologische Befunde bei schwergradigen Läsionen:

Mittels der Polymerasekettenreaktion untersuchten wir Zervix-Abstriche auf die Anwesenheit von DNA von humanen Papillomaviren.
Mit zunehmendem histologischen Schweregrad fanden sich bei mehr Patientinnen Infektionen mit Papillomaviren. Bei 60% der Zervizitisfälle, 71% der Metaplasien, 84% der CIN I, 88% der CIN II und 98% der schweren Dysplasien waren Infektionen mit Papillomaviren nachweisbar.
Auffällig ist die recht hohe Rate an HPV- Infektionen bei Patientinnen mit Zervizitis. Dies zeigt, daß auch schon bei leichtgradigen Läsionen bei einem nicht kleinen Anteil Infektionen mit humanen Papillomaviren nachweisbar sind; mit zunehmendem Schweregrad steigt diese Nachweisrate an.

Die höchste Nachweisrate für eine Infektion mit Papillomaviren fand sich bei unseren Patientinnen in der Altersgruppe der 15- 20 Jährigen, die niedrigste bei den 36- 40 Jährigen.
In unserem Patientengut läßt sich insgesamt eine hohe Rate an Infektionen mit humanen Papillomaviren nachweisen.

Befunde bei histologisch gesicherter Zervizitis:

Bei 90 % der Patientinnen konnte zytologisch die korrekte Diagnose Pap II gestellt werden.
38% der kolposkopischen Beurteilungen konnten korrekt gestellt

werden; 47% sind mit der Eingruppierung in Gruppe I bzw. II zu schwergradig befundet worden.

Befunde bei Kontaktblutungen:

Bei jeder Patientin, die wegen Kontaktblutungen überwiesen worden war, wurde zytologisch die Diagnose Pap II gestellt.
Bei 8 (38%) Patientinnen wurde eine Zervizitis diagnostiziert, bei 7 (33%) eine Metaplasie. Je 2 Patientinnen hatten unauffällige Befunde bzw. Zeichen einer Virusinfektion. Bei einer Patientin wurde ein Polyp diagnostiziert. In unserem Patientengut war die schwergradigste Diagnose in dieser Gruppe eine leichtgradige cervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN I).

VI. Literaturverzeichnis:

Becker, N., Wahrendorf, J (1998):
Krebsatlas der Bundesrepublik Deutschland 1981 – 1991, 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 1998

Bedell, M.A., Jones, K.H., Laimins, L.A. (1987):
The E6-E7 region of human papillomavirus type 18 is sufficient for transformation of NIH 3T3 and Rat-1 cells;
Journal of Virology 61: 3635- 3640

Belinson, J.L., Pretorius, R.G., Zhang, W.H., Wu, L.Y., Qiao, Y.L., Elson, P. (2001):
Cervical cancer screening by simple visual inspection after acetic acid;
Obstetrics and Gynecology 98: 441- 444

Blackledge, D., Russel, R. (1998):
„HPV effect“ in the female lower genital tract: A community study;
Journal of Reproductive Medicine 43: 929- 932

Bosch, F.X., De Sanjose S. (2003):
Human Papillomavirus and cervical cancer- burden and assessment of causality;
Journal of the National Cancer Institute; Monographs 31: 3-13

Chang, F. (1990):
Role of papillomaviruses;
Journal of Clinical Pathology 43: 269- 76

Cornelissen, M.T.E., Bots, T., Briet, M.A., Jebbink, M.F., Struyk, A.P.H.B., van den Tweel, J.G., Greer, C.E., Smits, H.L., ter Schegget, J. (1992):
Detection of human papillomavirus types by the polymerase chain reaction and the differentiation between high-risk and low-risk cervical lesions;
Virchows Archiv B Cell Pathology 62: 167-171

Crum,C.P., Barber, S., Symbula, M., Snyders, K., Saleh, A.M., Roche, J.K. (1990):
Coexpression of the human papillomavirus type 16 E4 and L1 open reading frames in early cervical neoplasia;
Virology 178: 238-246

Daniel B, Mukherjee, G., Seshadri, L, Vallikad, E., Krishna, S (1995):
Changes in the physical state and expression of human papillomavirus type 16 in the progression of cervical intraepithelial neoplasia lesions analysed by PCR;
Journal of General Virology 76: 2589- 2593

Das, B.C., Sharma, J.K., Gopalakrishna, V., Luthra, U.K. (1992):
Analysis by polymerase chain reaction of the physical state of human papillomavirus type 16 DNA in cervical preneoplastic and neoplastic lesions;
Journal of General Virology 73: 2327- 2336

De Roda Husman, A., Walboomers, J.M.M., Van den Brule, A.C., Meijer,C.J.L.M., Snijders, P.J.F. (1995):
The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3` ends with adjactant highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR;
Journal of General Virology 76: 1057- 1062

de Villiers, E.M, Schneider, A., Miklaw, H., Papendick, U., Wagner, D., Wesch, H., Wahrendorf, J., zur Hausen, H. (1987):
Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology;
The Lancet September 26: 703- 705.

de Villiers, E.M. (1989):
Heterogeneity of the human papillomavirus group;
Journal of Virology 63: 4898- 4903

de Villiers, E.-M., Wagner, D., Schneider, A., Wesch, H., Munz, F., Miklaw, H., zur Hausen, H. (1992):
Human papillomavirus DNA in women without and with cytological abnormalities: Results of a 5-year follow- up study;
Gynecologic Oncology 44: 33-39

de Villiers, E.-M. (1997):
Humanpathogene Papillomviren;
Infektionsepidemiologische Forschung InfFo II/97: 13-17; Herausgeber: Robert Koch Institut für Infektionskrankheiten und nicht übertragbare Krankheiten

Dürst, M., Kleinheinz, A., Hotz, M., Gissmann, L. (1985):
The physical state of human papillomavirus type 16 in benign and malignant genital tumors;
Journal of General Virology 66:1515- 1522

Einstein, M.H., Burk, R.D. (2001):
Persistent human papillomavirusinfection: definitions and clinical Implications;
Papillomavirus 12: 119- 123

Eyer, W. (1939):
Warzen;
Handbuch der Viruskrankheiten 443- 446; Gustav Fischer Verlag Herausgeber: Gildemeister, Haagen, Waldmann

Ferency, A., Winkler, B. (1987, a):
Benign diseases of the cervix;
Blaustein´s Pathology of the female genital tract 158- 176; Herausgeber: Kurman

Ferency, A., Winkler, B. (1987, b):
Cervical intraepithelial neoplasie and condyloma
Blaustein´s Pathology of the female genital tract 177- 217; Herausgeber: Kurman

Fuchs, P.G., Girardi, F., Pfister, H. (1988):
Human papillomavirus DNA in normal, metaplastic, preneoplastic and neoplastic epithelia of the cervix uteri;
International Journal of Cancer 41: 41- 45

Fujii, T., Tsukazaki, K., Kiguchi, K., Kubushiro, K., Yajima, M., Nozawa, S. (1995):
The major E6/E7 transcript of HPV- 16 in exfoliated cells from cervical neoplasia patients;
Gynecologic Oncology 58: 210- 215

Furber, S.E., Weisberg, E., Simpson, J.M. (1997):
Progression and regression of low-grade epithelial abnormalities of the cervix;
Australian and Newzealand Journal of Obstetrics and Gynaecology 37: 107- 112

Gissmann, L. (1998):
Krebsprävention durch Vakzination;
Handbuch der molekularen Medizin, Band 2- Tumor-erkrankungen: 201- 217, Springer Verlag

Hahn, Falke, Klein (1994):
Papillomviren des Menschen
Medizinische Mikrobiologie; Springer- Lehrbuch

Han, R., Cladel, N.M., Reed, C.A., Christensen, N.D. (1998):
Characterization of transforming function of cottontail rabbit papillomavirus E5 and E8 genes;
Virology 251: 253- 263

Havre, P.A:, Yuan, J., Hedrick, L., Cho, K.R., Glazer, P.M. (1995):
p53 inactivation by HPV16 E6 results in increased mutagenesis in human cells;
Cancer Research 55: 4420- 4424

Hellberg, D., Nilsson, S., Grad, A., Hongxiu, J., Fuju, C., Syrjänen, S, Syrjänen, K. (1993):
Behavior of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) associated with various human papillomavirus (HPV) types;
Archives of Gynecology and Obstetrics 252: 119- 128

Hinselmann, H. (1925):
Verbesserung der Inspektionsmöglichkeiten von Vulva, Vagina und Portio;
Münchener medizinische Wochenschrift: 9. Oktober 1925: 1733

Hinselmann, H. (1938):
Die Essigsäureprobe ein Bestandteil der erweiterten Kolposkopie:
Deutsche medizinische Wochenschrift: 7. Januar 1938: 40-42

Ho, G.Y.F., Bierman, R., Beardsley, L., Chang, C.J., Burk, R. D. (1998):
Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women;
New England Journal of Medicine 338: 423- 428

Ismail, S.M., Colclough, A.B., Dinnen, J.S., Eakins, D., Evans, D.M., Gradwell, E., O´Sullivan, J.P., Summerell, J.M., Newcombe, R. (1990):
Reporting cervical-intraepithelial neoplasia (CIN): intra- and interpathologist variation and factors associated with disagreement;
Histopathology 16: 371- 376

Jonsson, M., Karlsson, R., Evander, M., Gustavsson, A., Rylander, E., Wadell, G. (1997):
Acetowhitening of the cervix and vulva as a predictor of subclinical human papillomavirus infection: sensitivity and specifity in a population- based study;
Obstetrics and Gynecology 90: 744- 747

Kaur, P., McDougall, J.K. (1988):
Characterization of primary human keratinocytes transformed by human papillomavirus type 18;
Journal of Virology 62: 1917- 1924

Kirkegaard, O., Byrjalsen, C., Hansen, K.C., Frandsen, K.H, Frydenberg, M (1995):
Association between colposcopic findings and histology in cervical lesions: The significance of the size of the lesion; Gynecologic Oncology 57: 66- 71

Kirwan, J.M.J., Herrington, C.S. (2001):
Human papillomaviruses and cervical cancer: where are we now?
British Journal of Obstetrics and Gynaecology 108: 1204- 1213

Konno, R., Paez, C., Sato, S., Yajima, A., Fukao, A. (1998):
HPV, histologic grade and age: risk factors for the progression of cervical intraepithelial neoplasia;
The Journal of Reproductive Medicine 43: 561- 566

Kónya J., Veress, G., Hernádi, Z., Soós, G., Czeglédy, J., Gergely, L.(1995):
Correlation of human papillomavirus 16 and 18 with prognostic factors in invasive cervical neoplasias;
Journal of Medical Virology 46: 1- 6

Koutsky, L.A., Holmes, K.K., Critchlow, C.W., Stevens, C.E., Paavonen, J., Beckmann, A.M., DeRouen, T.A., Galloway, D.A., Vernon, D., Kiviat, N.B. (1992):
A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection;
The New England Journal of Medicine 327: 1272- 1278

Kovi, J., Tillman, R.L., Lee, S.M., (1973):
Malignant transformation of condyloma acuminatum- a light microscopic and ultrastructural study;
American Journal of Clinical Pathology 61: 702- 710

Londesborough, P., Ho, L., Terry, G., Cuzick, J., Wheeler, C., Singer, A. (1996):
Human papillomavirus genotype as a predictor of persistence and development of high- grade lesions in women with minor cervical abnormalities;
International Journal of Cancer 69: 364- 368

Mack, D. H., Sninsky, J.J. (1988):
A sensitive method for the identification of uncharacterized viruses related to known virus groups: hepadnavirus model system;
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 85: 6977-6981

MacLean, J.S. (1979):
The life of Hans Hinselmann;
Obstetrics and gynecological survey 11: 788-789

Meisels, A., Casas- Cordero, M., Morin, C. (1985):
Human Papillomavirus Infection of the Uterine Cervix; Cancer of the Uterine Cervix: 173- 185; Gustav Fischer Verlag; Herausgeber: Grundmann

Menton, M., Wallwiener, D., Hilgarth, M (1998):
Klinische Wertigkeit der kolposkopischen Diagnostik in der Früherkennung und Therapie von Zervixkarzinomvorstufen;
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 58: M159- M168

Milde- Langosch, K., Riethdorf, S., Park,T.-W.(1999):
Natürlicher Verlauf der HPV- Infektion- Nutzen der HPV-Analytik in der Zervixdiagnostik;
Pathologe; 20:15-24

Moskaluk, C.A., Bastia, D. (1988):
Interaction of the bovine papillomavirus type 1 E2 transcriptional control protein with the viral enhancer: purification of the DNA- binding domain and analysis of its contact points with DNA;
Journal of Virology 62: 1925- 1931

Östör, A.G. (1993):
Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review;
International Journal of Gynecological Pathology 12: 186-192

Papanicolaou, G.N. (1960):
Atlas of Exfoliative Cytology, suppl.2: 18-19
Harvard University Press, Cambridge, Mass.

Pisani, P., Bray, F., Parkin, D.M. (2002):
Estimates of the world- wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population;
International Journal of Cancer 97: 72- 81

Reid, R., Stanhope, C.R., Herschmann, B.R., Crum, C.P., Agronow, S.J. (1984):
Genital warts and cervical cancer. IV. a colposcopic index for differentiating subclinical papillomavirus infection from cervical intraepithelial neoplasia;
American Journal of Obstetrics and Gynecology 149: 815-823

Reid, R., Scalzi, P (1985):
Genital warts and cervical cancer; an improved colposcopic index for differentiating benign papillomaviral infections from high-grade cervical intraepithelial neoplasia;
American Journal of Obstetrics and Gynecology 153: 611-618

Reid, R., Greenberg, M., Jenson, A.B., Husain, M., Willett, J., Daoud, Y., Temple, G., Stanhope, C.R., Sherman, A.I., Phibbs, G.D., Lorincz, A.T. (1987):
Sexually transmitted papillomaviral infections- the anatomic distribution and pathologic grade of neoplastic lesions associated with different viral types;
American Journal of Obstetrics and Gynecology 156: 212-222

Richart, R.M. (1997):
Cervical cancer precursors and their management;
Te Linde´s Operative gynecology, eighth edition: 1385-1412;
Lippincott- Raven Publisher, Philadelphia1; Herausgeber: Rock. Thompson

Riou, G., Favre, M., Jeannel, D., Bourhis, J., Le Doussal, V., Orth, G. (1990):
Association between poor prognosis in early-stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA. Lancet 335: 1171- 74

Robertson, A.J. Anderson, J.M. Beck, S. Burnett, R.A., Howatson, S.R., Lee, F.D., Lessels, A.M., McLaren K.M., Moss S.M., Simpson J.G., Smith, G.D., Tavadia, H.B., Walker,F. (1989):
Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens;
Journal of Clinical Pathology 42: 231-238

Rose, B.R,.Thompson, C.H., Tattersall, M.H.N., Elliott, P.M., Dalrymple, C., Cossart, Y.E. (1995):
Identification of E6/E7 transcription patterns in HPV 16- positive cervical cancers using the reverse transcription/ polymerase chain reaction;
Gynecologic Oncology 56: 239- 244

Rous, P., Beard, (1934):
The progression to carcinoma of virus- induced rabbit papillomas (Shope);
Journal of Experimental Medicine 62: 523- 542

Rous P., Friedewald, W.F. (1944):
The effect of chemical carcinogens on virus induced rabbit papillomas;
Journal of Experimental Medicine 79: 521- 537

Scheuermann, W., Rensing, K., Schmid, H., Wallwiener, D., Bastert, G. (1997):
Mortalität an bösartigen Brust- und Genitaltumoren bei Frauen in der Bundesrepublik Deutschland von 1970- 1994;
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 57: 423- 428

Schiller, **W.** (1929):
Jodpinselung und Abschabung des Portioepithels;
Zentralblatt für Gynäkologie 17: 1056- 1064

Schneider, A., Hotz, M. Gissmann, L. (1987):
Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women;
International Journal of Cancer 40: 198- 201

Schneider, A., Kaufmann, A., Nindl, I., Dürst, M. (1998):
Molekulare Diagnostik und Therapie der HPV- assoziierten genitalen Erkrankungen;
Gynäkologe 31: 1057- 1066

Schneider, A., Dürst, M., Lochmus, I., Gissmann, L (1998a):
Epidemiologie, Ätiologie und Prävention des Zervixkarzinoms;
Onkologe 4: 110- 123

Shalini, R., Amita, S., Neera, M.A. (1998):
How alarming is post-coital bleeding- a cytologic, colposcopic and histopathologic evaluation;
Gynecologic and Obstetric Investigation 45: 205- 208

Shnitman Magal, S., Jackman, A., Pei, X.F., Schlegel, R., Sherman, L. (1998):
Induction of apoptosis in human keratinocytes containing mutated p53 allels and its inhibition by both the E6 and E7 oncoproteins;
International Journal of Cancer 75: 96- 104

Shope, R. (1933):
Infectious papillomatosis of rabbits;
Journal of Experimental Medicine 58: 609- 624

Sotlar, K., Selinka, H.C., Menton, M., Kandolf, R., Bültmann, B. (1998):
Detection of human papillomavirus type 16 E6/E7 oncogene transcripts in dysplastic and nondysplastic cervical scrapes by nested PCR;
Gynecologic Oncology 69: 114- 121

Stanley, M. (1998):
The immunology of genital human papilloma virus infection;
European Journal of Dermatology 8: 8- 12

Syrjänen, K.J. (1980):
Current views on the condylomatous lesions in uterine cervix and their possible relationship to cervical squamous cell carcinoma;
Obstetrical & Gynecological Survey 35: 685- 694

Syrjänen, K. (1998):
Anogenital human papillomavirus and the problem of persistence;
European Journal of Dermatology 8: 5-7

Torroella-Kouri, M., Morsberger, S., Carillo, A., Mohar, A., Meneses, A., Ibarra, M., Daniel, R.W., Ghaffari, A.M., Solorza, G., Shah, K.S. (1998):
HPV- prevalence among mexican women with neoplastic and normal cervixes;
Gynecologic Oncology 70: 115- 120

University of Zimbabwe/JHPIEGO Cervical Cancer Project (1999):
Visual inspection with acetic acid for cervical-cancer screening: test qualities in a primary-care setting;
Lancet 353: 869- 873

Väyrynen, M., Syrjänen, K., Castren, O., Saarikoski, S., Mäntyjärvi, R. (1985)**:**
Colposcopy in women with papillomavirus lesions of the uterine cervix;
Obstetrics and Gynecology 65: 409- 415

Wagner, D. (1990):
Münchner Nomenklatur II für die gynäkologische Zytodiagnostik;
Acta Cytologica 34: 900- 901

Watanabe, S., Kanda, T., Yoshiike, K. (1989):
Human papillomavirus type 16 transformation of primary human embryonic fibroblasts requires expression of open reading frames E6 and E7;
Journal of Virology 63: 965- 969

Werness, B.A., Levine, A. J., Howley, P.M. (1990):
Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53;
Science 248: 76- 79

Wright, T.C., Richart, R.M. (1990):
Review: role of human papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer;
Gynecologic Oncology 37: 151- 164

zur Hausen, H. (1985):
Papilloma viruses and human genital cancer;
Cancer of the Uterine Cervix: 167- 171
Gustav Fischer Verlag, Herausgeber: Grundmann

zur Hausen, H. (1985, a):
Genital Papillomavirus infections;
Progress in medical Virology 32: 15- 21

zur Hausen, H. (1991):
Viruses in Human Cancer;
Science 254:1167-1173

zur Hausen, H. (2002):
Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application
Nature Reviews2: 342- 350

VII. Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Michael Menton danke ich für die Vergabe des Themas, die Unterstützung bei der Einarbeitung in das Fachgebiet und die inhaltliche Betreuung.
Weiterhin danke ich für reges Interesse am Fortgang dieser Arbeit sowie für die Bereitstellung des Bildmaterials.

Herrn Dr. med. Karl Sotlar möchte ich für die fachliche Beratung und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit danken.

Frau Dr. rer. nat. Barbara Pietsch- Breitfeld danke ich für die Beratung bei statistischen Fragestellungen.

Frau Dr. med. Susanne Menton danke ich für Unterstützung und Beratung.

Ich danke meiner Familie für die liebevolle Unterstützung.

VIII. Lebenslauf

Jeannine Bachmann

geboren am 12.2.1976 in Tübingen

- Schulbildung

  1982- 1986: Grundschule, Tübingen
  1986- 1995: Uhlandgymnasium, Tübingen

- Hochschulbildung

1995- 2001:	Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls- Universität Tübingen
1997:	Ärztliche Vorprüfung
1998:	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2000:	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
21.11.2001:	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

- Ärztliche Weiterbildung

Seit 1.1.2002	Ärztin im Praktikum am Deutschen Krebsforschungszentrum Heidelberg