

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie  
und Allergologie  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Lars E. French

**Risikoanalyse und Häufigkeitsbestimmung der HPV-Subtypen  
in Zellabstrichen und Gewebeproben von Hauttumoren bei  
immunsupprimierten Patienten**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Bruno Hundsörfer  
aus Bernburg

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Markus Reinholz, Ph.D., FEBDV

Mitberichterstatter: PD Dr. Hanna-Mari Baldauf  
PD Dr. Rachel Würstlein  
Prof. Dr. Reinhard Zeidler

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.10.2023

**Meiner Familie**

**in Dankbarkeit**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1	VIRUSINDUZIERTE TUMORERKRANKUNGEN.....	1
1.2	HUMANE PAPILLOMAVIREN.....	3
1.2.1	Morphologie und Klassifikation.....	3
1.2.2	Pathogenese und Infektionsweg.....	7
1.2.3	Karzinogenese und Manifestation der unterschiedlichen HPV-Typen....	8
1.3	EPIDEMIOLOGIE.....	11
1.4	RISIKOFAKTOREN FÜR HPV-INFEKTIONEN.....	13
1.5	HPV-ASSOZIIERTE NEOPLASMIEN DER ANOGENITALEN SCHLEIMHÄUTE.....	14
1.5.1	Feigwarzen (Condylomata acuminata).....	14
1.5.2	Intraepitheliale Neoplasie.....	16
1.5.3	Karzinom.....	17
1.6	KLINIK UND DIAGNOSTIK.....	18
1.6.1	Histologie.....	19
1.6.2	Zytologie/PAP-Test.....	20
1.6.3	Molekularbiologischer HPV-DNA-Nachweis.....	20
1.6.4	Anoskopie, Kolposkopie, Urethroskopie.....	20
1.6.5	Essigsäure-Test.....	21
1.7	THERAPEUTISCHE MÖGLICHKEITEN.....	21
1.7.1	Topische Therapie.....	21
1.7.2	Chirurgische Therapie.....	23
1.8	PRÄVENTION.....	24
1.8.1	Impfungen.....	24
1.8.2	Kondome.....	26
1.8.3	Zukunftsausblick.....	26
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>27</b>
2.1	STUDIENDESIGN UND ZIELSETZUNG.....	27
2.2	MATERIAL.....	28
2.2.1	Patientenkollektiv.....	28
2.2.2	Ethikkommission.....	28
2.2.3	Datenerhebung.....	30
2.3	METHODE – HISTOLOGISCHE UND IMMUNHISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	33
2.3.1	DNA-Extraktion.....	33
2.3.2	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	34
2.3.3	Agarose-Gelelektrophorese.....	38
2.3.4	Chip-Analyse.....	40
2.3.5	Statistische Auswertung.....	46
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>47</b>
3.1	GESCHLECHTERVERTEILUNG.....	47
3.2	ALTERSVERTEILUNG.....	48
3.3	HIV-STATUSVERTEILUNG IN ABHÄNGIGKEIT VOM GESCHLECHT.....	50
3.4	GEWEBEPROBEN.....	51
3.5	LOKALISATIONSVERTEILUNG.....	51
3.6	HISTOLOGISCHES GRADING.....	52

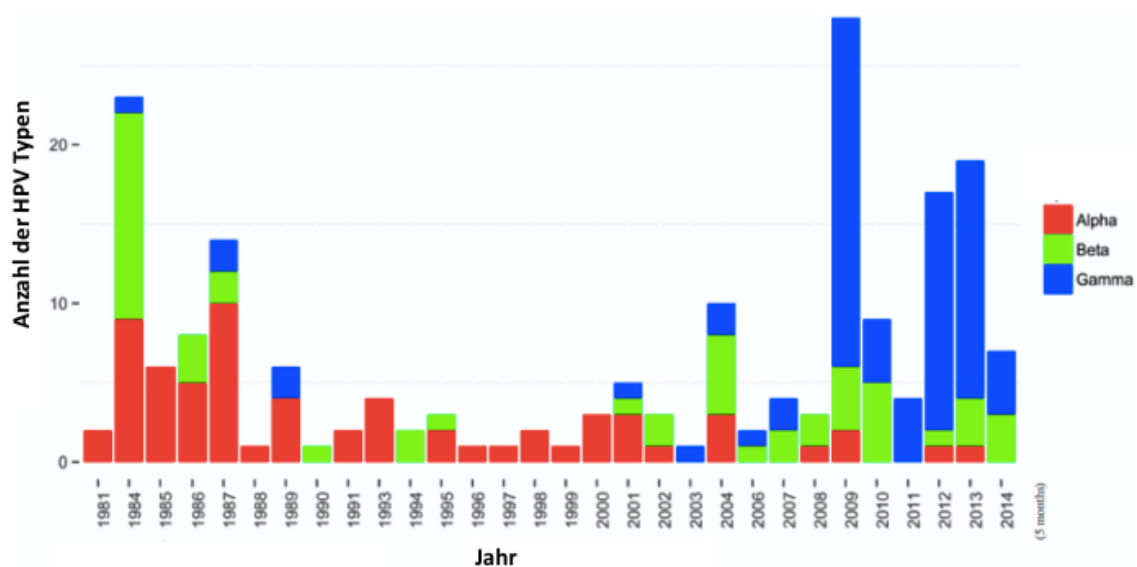
3.7	VERTEILUNG VON HPV TYPEN IM VERGLEICH ZUR HISTOLOGISCHEN BEFUNDUNG	53
3.8	ZUSAMMENHANGSANALYSE VON HISTOLOGISCHEM GRADING UND MOLEKULARGENETISCHEM HPV-NACHWEIS IN EINZELBETRACHTUNG FÜR INTRAEPITHELIALE NEOPLASIEN UND CONDYLOMA ACUMINATA .....	55
3.9	HÄUFIGKEITSVERTEILUNG VON HPV-SUBTYPEN BEI FEIGWARZEN .....	57
3.9.1	Zusammenhang von Condyl. ac. und Low-Risk-HPV-Subtypen 6, 11..	58
3.9.2	Zusammenhang von Alter und HPV-Genom.....	59
3.9.3	Gegenüberstellung und Analyse des Zusammenhangs von HIV-Status, molekulargenetischen Ergebnissen und histologischer Befundung .....	59
3.10	VERTEILUNG NACH DER HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER HPV-SUBTYPEN IN INTRAEPITHELIALEN NEOPLASIEN IN I–III.....	62
3.10.1	Korrelation von steigendem Invasivitätsgrad und molekulargenetischer Untersuchungen an HPV 16 und HPV 18.....	64
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>66</b>
4.1	GESCHLECHTS- UND ALTERSVERTEILUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS .....	68
4.2	ZUSAMMENHANG VON HPV- UND HIV-INFEKTIONEN .....	69
4.3	GEWEBEPROBEN UND LOKALISATIONSVERTEILUNG .....	72
4.4	HISTOLOGISCHES GRADING IM VERGLEICH ZUM MOLEKULARGENETISCHEN HPV-NACHWEIS .....	73
4.5	HPV-PRÄVALENZ BEI ANOGENITALEN FEIGWARZEN .....	75
4.6	HPV-PRÄVALENZ BEI INTRAEPITHELIALEN NEOPLASIEN GRAD I–III .....	77
4.7	GEMISCHTE HPV-INFEKTIONEN ALS HAUPTTRISIKOFAKTOR.....	79
4.8	VERHINDERUNG VON IN I–III DURCH IMPFUNG .....	80
4.9	RISIKOBEWERTUNG DES LOW RISK HPV-TYP 42 NACH AKTUELLER STUDIENLAGE .....	80
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN UND AKRONYME</b> .....	<b>83</b>
<b>7</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>87</b>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>88</b>
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>97</b>
<b>11</b>	<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b> .....	<b>98</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Virusinduzierte Tumorerkrankungen

Chronische Virusinfektionen stellen einen wesentlichen Risikofaktor für Tumorerkrankungen dar. (de Oliveira, 2007)

Auch wenn sich die Lebenserwartung von HIV-positiven Patienten (HIV = humanes Immundefizienzvirus) in den letzten 20 Jahren durch die Möglichkeit der antiretroviralen Therapie (ART) verlängert hat, so treten jedoch immer mehr nicht Aids-definierende Krebserkrankungen bei HIV-positiven Patienten in den Vordergrund und stellen eine der häufigsten Todesursachen dar. Hierbei ist eine ansteigende Inzidenz der Karzinome zu beobachten, die durch verschiedenste humane Papillomaviren (HPV) verursacht werden. (Gervaz, Hirschel, & Morel, 2006; M Melbye, Cote, Biggar, Kessler, & Gail, 1994; Palefsky, Holly, Ralston, Da Costa, & Greenblatt, 2001) Durch die Einführung neuer Nachweisverfahren (metagenomische Sequenzierung) werden stetig neue HP-Viren entdeckt, was einen Einfluss auf die Anzahl, Klassifizierung und das Wissen über ausgelöste Infektionen durch HP-Viren hat. (Bzhalava et al., 2014; Foulongne et al., 2012). Folgende Abbildung (Abb.1) veranschaulicht dabei die Verschiebung der Anzahl der HPV Typen unterteilt in Alpha-, Beta-, und Gamma Papillomaviren in den Jahren 1981-2014.



**Abbildung 1: Anzahl von  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\chi$ -Papillomaviren nach Kalenderjahren. (Virology, Volume 476, February 2015, pages 341–344 Fig. 2) (Bzhalava, Eklund, & Dillner, 2015)**

Daraus wird die Entwicklung neuer Impfstoffe zur weiteren Reduktion von viral induzierten Tumorerkrankungen in naher Zukunft resultieren. So kann heute durch eine spezifische Vorsorgeimpfung gegen die humanen Papillomavirustypen 6, 11, 16 und 18 in 98 % der Fälle die Entwicklung einer neoplastischen Vorstufe (zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad II oder III) oder die Ausbildung eines Zervixkarzinoms verhindert werden. (Group, 2007b) Auch bei bereits bestehender positiver Testung einzelner vom Impfstoff abgedeckter HPV-Subtypen (1–3 HPV-Subtypen) wirkt die quadrivalente Impfung der Entstehung von Neoplasien durch die im Impfstoff verbliebenen, noch negativen HPV-Subtypen entgegen. Dies lässt die Vorsorgeimpfung auch ohne vorheriges Screening als sinnvoll erscheinen. (Group, 2007a)

Auch anale intraepitheliale Neoplasien (AIN) vom Grad II oder III lassen sich bei homosexuellen Männern (MSM), durch die Anwendung von quadrivalenten HPV-Impfstoffen reduzieren. (Palefsky et al., 2011)

Daraus lässt sich die klinische Bedeutung für Screeningprogramme für genitoanale intraepitheliale Dys- oder Neoplasien als Vorläuferläsion für Analkarzinome ableiten. (A Kreuter et al., 2003)

## 1.2 Humane Papillomaviren

### 1.2.1 Morphologie und Klassifikation

Die weltweit vorkommenden humanen Papillomaviren gehören zur stetig wachsenden Familie der Papillomaviridae, wie vom Internationalen Komitee für Taxonomie von Viren (ICTV) festgelegt wurde.

Humane Papillomaviren sind unbehüllt und besitzen ein kleines, ringförmiges, doppelsträngiges DNA-Genom mit einer Größe von ca. 6.800–8.000 bp. Aktuell sind in der Familie der Papillomaviridae über 225 Genotypen klassifiziert. Der unten angeführte Phylogenetischer Baum (Abb.2) soll ein Überblick über die Zusammenhänge und Abstammungen der 189 Papillomaviren geben.

Anhand der DNA lassen sich unter den mehr als 225 HPV-Typen fünf Genera beschreiben, die in alpha-, beta-, gamma-, mu- und nu-Papillomavirus untergliedert werden. (Mühr, Eklund, & Dillner, 2018)

Das unbehüllte Kapsid ist ikosaedrisch aufgebaut und enthält im Inneren das virale Genom bei einem Durchmesser von 45–55 nm. (Doorbar et al., 2012)

Die Nukleotidsequenzen der verschiedenen Virustypen variieren nach Definition über 10 % von ihrem Hauptkapsidproteins L1 (late gene 1). Dieses Gen dient zur Klassifikation und Konstruktion eines phylogenetischen Baumes der humanen Papillomaviren. (H.-U. Bernard et al., 2010)

Die genetische Information der humanen Papillomaviren liegt in zwei unterschiedlichen Regionen vor:

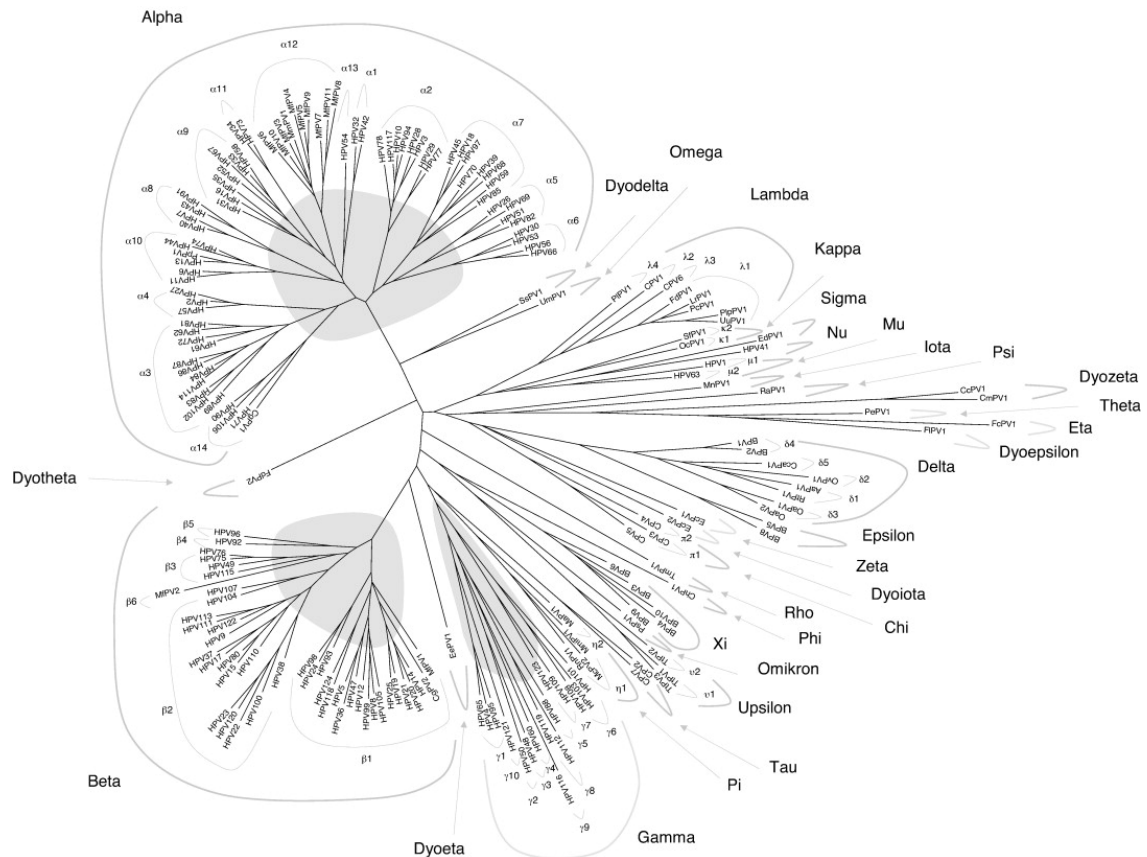
- in einer nicht kodierenden Region (long control region, LCR)
- in einer kodierenden Region für die frühen (early gene, E) und späten (late gene, L) Gene mit offenen Leserahmen (open reading frames, ORFs)

Die nicht kodierende Region bildet den Ausgangspunkt für die Virusreplikation und beinhaltet regulatorische Elemente. (Bernard & Apt, 1994)

Die frühen Gene (E1–E7) haben zwei wesentliche Aufgaben: Sie sind auf der einen Seite für die Replikation der viralen DNA (E1, E2), die Virus-Reifung und Freisetzung (E4) sowie die Transkription der viralen Gene (E2) zuständig, auf der anderen Seite



für die Regulierung der Proteinfunktion der Wirtszelle. Diese Zellregulierung ist notwendig, um die Voraussetzungen für eine optimale Virusreplikation zu schaffen.

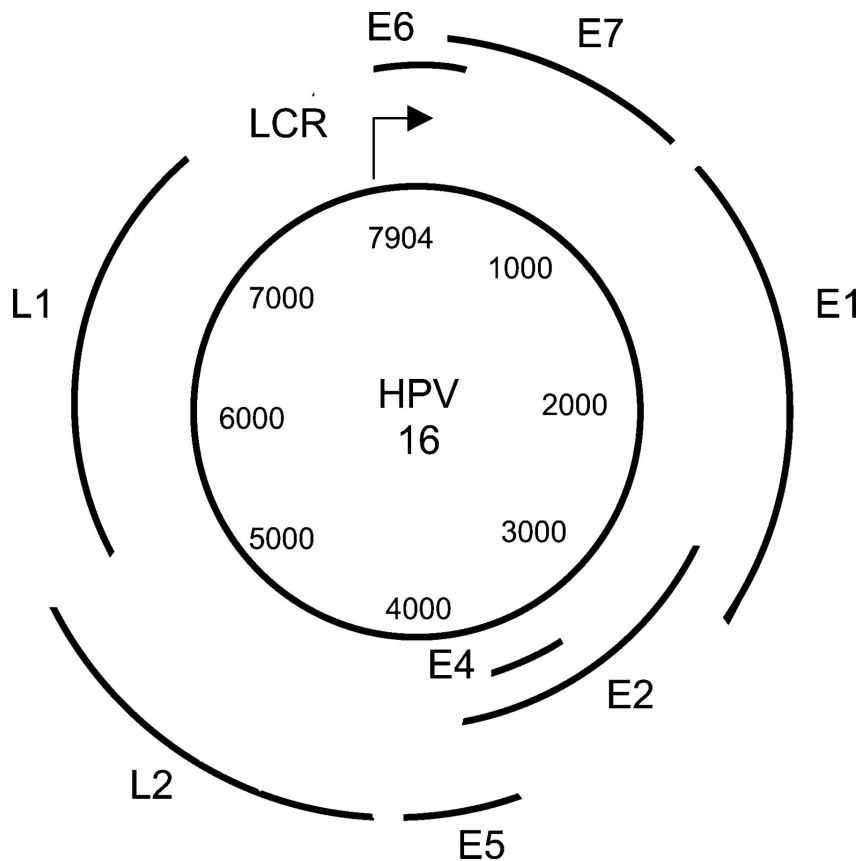


**Abbildung 2: Phylogenetischer Baum, entwickelt aus der L1-Nukleotidsequenz von 189 Papillomaviren. ((H. U. Bernard et al., 2010)**

Anhand der Abbildung des Genoms von dem High-Risk-HPV Typ 16 (Abb.3), soll der Aufbau schematisch beschrieben werden. Das Virusprotein E5 ist für die Expression des epidermalen Wachstumsfaktors ausschlaggebend und beeinflusst somit die Invasion des HPV-Genoms in die Wirtszelle. (Wechsler, Tugizov, Herrera, Da Costa, & Palefsky, 2018)

E6/E7 stehen bei der Krebsentstehung im Vordergrund. Ihre Aufgabe ist es, den Proliferationszyklus der differenzierenden Epithelzellen aufrechtzuerhalten. Dabei inhibiert das Virusprotein E6 (anti-apoptotisch) das Tumorsuppressorprotein p53. Aufgabe des Tumorsuppressorproteins p53 ist die Replikationsinhibition von mutierten Zellen, um fehlerhafte Stellen der DNA zu korrigieren oder den programmierten Zelltod einzuleiten. E7 (mitogen) inhibiert das Retinoblastom-Protein (pRb), was zur Immortalisierung führt.

Schließlich können sich die Viren ungehindert vermehren, klonal ausbilden, die gesunden Zellen verdrängen und maligne Tumore ausbilden. (Doorbar, 2007; Putral et al., 2005; Zheng & Baker, 2006)



**Abbildung 3: Schematischer Aufbau des Genoms von High-Risk-HPV 16. E1 (Replikation), E2 (Replikation, Transkription), E4 (Virusfreisetzung), E5 (Immunabwehr über Expression von EGFR), E6 (Bindung an p53) und E7 (Bindung an pRB) sind die frühen Gene (early genes). L1 und L2 kodieren für die Haupt- und Neben-Kapsid-Proteine als späte Gene (late genes). LCR ist die nicht kodierende Region. (Crosbie & Kitchener, 2006)**

Den Anogenitaltrakt infizierende alpha-Papillomaviren können verschiedene benigne und maligne Tumore verursachen. Eine Einteilung derer erfolgt danach, wie wahrscheinlich eine onkogene Entartung ist. Ein niedriges Potential wird dabei mit

Low-Risk (LR) und ein hohes Potential mit High-Risk (HR) beschrieben. (H.-U. Bernard et al., 2010)

Zur Gruppe der Low-Risk-Typen zählt HPV 6, aber auch HPV 11. Wichtige Vertreter der High-Risk-Typen sind HPV 16 und auch HPV 18. (Véronique Bouvard et al., 2009)

Mit Hilfe der nachfolgenden Tabelle (Tab.1) ist eine Klassifikation der einzelnen HPV-Typen möglich:

<b>Karzinogenitäts-Gruppe</b>	<b>HPV-Genotypen</b>	<b>Klassifikation</b>
Gruppe 1	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	<u>Karzinogene</u> HPV-Typen
Gruppe 2A	68	<u>Wahrscheinlich karzinogene</u> HPV-Typen
Gruppe 2B	5, 8, 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85, 97	<u>Möglicherweise karzinogene</u> HPV-Typen
Gruppe 3	6, 11	<u>Nicht einstuftbare</u> HPV-Typen bezüglich ihres karzinogenen Potentials
keine Gruppe	42, 44, 54, 61, 62, 72, 81, 83, 84, 90, 91	<u>Nicht eingestufte</u> HPV-Typen

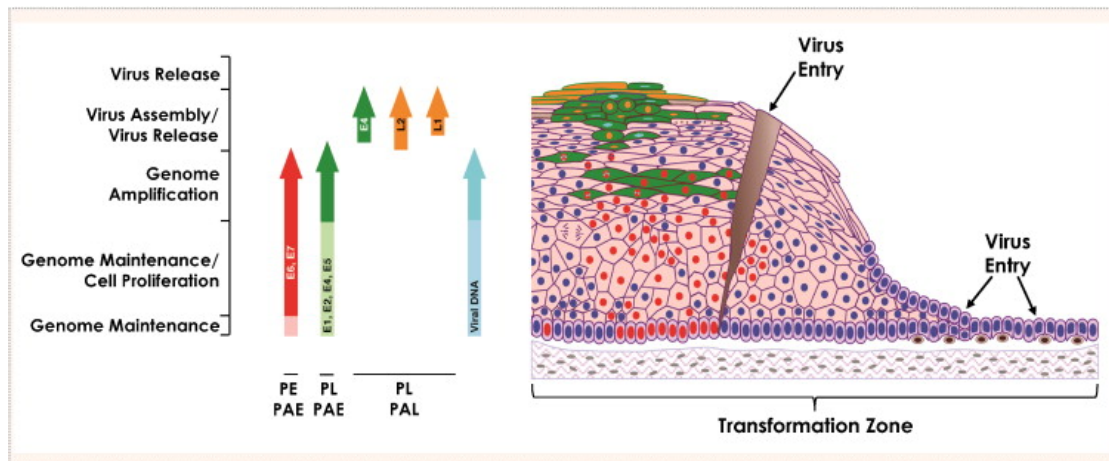
**Tabelle 1: Einteilung des onkogenen Potentials von Hoch-Risiko- $\alpha$ -HPV-Typen (V. Bouvard et al., 2009)**

### 1.2.2 Pathogenese und Infektionsweg

HP-Viren sind stark sowohl wirts- als auch gewebespezifisch und replizieren sich in mehrschichtigem Plattenepithel von genitaler und oraler Schleimhaut sowie der Haut. Sie erreichen über Mikroläsionen die Basalzellen (Keratinocyten) des Epithels (Abb.4). Das L1-Kapsidprotein bindet dafür an die Basalmembran und erfährt eine Konformationsänderung, wodurch Viruspartikeln per Endozytose die Infektion der Basalzellen des mehrschichtigen Plattenepithels ermöglicht wird. (Kines, Thompson, Lowy, Schiller, & Day, 2009)

Die Epidermis besteht zu mehr als 95 % aus Keratinocyten, die aus den Stammzellen der Basalschicht gebildet werden. Sie durchwandern die Epidermis und durchlaufen einen streng regulierten Differenzierungsvorgang. (Kerscher, 2004) An diesen Differenzierungsgrad der infizierten Keratinocyten sind die Replikation und die Protein-Expression des HPV geknüpft. Für die Kodierung der frühen Phase ist ein Genomabschnitt zuständig (early region), der aus neun bis zehn offenen Leserahmen (ORF) besteht. Zunächst wird die Virus- DNA mit Hilfe der Gene E1 und E2 verdoppelt, wodurch es zu einer Proliferation der Keratinocyten kommt. Das E2-Gen unterdrückt das weitere Transkriptionen von E6 und E7 durch Kopplung an die LCR oder URR (upstream regulatory region). Daher finden sich im Rahmen der Primärinfektion in den Basalzellen nur vereinzelte virale Genome. Die Gentranskription von E1, E2 und E5 ist ebenso schwach. Die Genexpression von E1-2 und E4-7 findet in den oberflächlichen Epidermisschichten statt und die virale DNA-Replikation setzt ein.

In der späten Phase wird ein weiterer Genabschnitt transkribiert, der aus zwei ORFs besteht, welches Informationsmaterial für die die Strukturproteine L1/L2 beinhaltet. Deren Expression startet, sobald die befallene Zelle als Keratinozyt höhere Hautschichten erreicht hat. Ausgereifte und infektiöse Virionen lassen sich im Stratum spinosum oder granulosum finden. Durch Abschilferung der obersten Zellschicht kommt es zu einer Freisetzung dieser. Die Virusreplikation ist mit der Zelldifferenzierung im Plattenepithel folglich stark synchronisiert. (McKinney, Hussmann, & McBride, 2015)



**Abbildung 4: Lebenszyklus von High-Risk-HPV in der Gebärmutterhalsschleimhaut**  
**Mikroläsionen ermöglichen die Infektion der Basallamina des mehrschichtigen Plattenepithels. (Doorbar, 2007)**

### 1.2.3 Karzinogenese und Manifestation der unterschiedlichen HPV-Typen

Die humanpathogenen Papillomaviren sind streng epitheliotrop und weisen eine außerordentliche Typenvielfalt auf. Die meisten HPV-Infektionen stellen transiente Infektionen dar, es treten somit keine Symptome auf und daher bleibt die Infektion unentdeckt. Sie verheilen zwischen vier Monaten und zwei Jahren und erzeugen keine Neoplasien. (Trottier & Franco, 2006)

Da nicht nur verhornendes, sondern auch unverhornendes Plattenepithel von den Viren befallen wird, werden die verschiedenen humanpathogenen Papillomavirus-Typen entsprechend ihrer Präferenz eingeteilt. Dabei werden HP-Viren mit vorwiegend genital-mukosalem Tropismus (vorwiegend alpha-Papillomaviren) von solchen mit kutanem und oral-mukosalem Tropismus (beta-, gamma-, mu-, nu- sowie einige alpha-Papillomaviren) unterschieden. Multiple humane Papilloma Viren sind in der Lage kutane aber auch mukosale Schäden zu erzeugen. (Bzhalava, Guan, Franceschi, Dillner, & Clifford, 2013)

## **Kutaneotrope Typen**

Low-Risk-HPV integrieren nur selten in das Genom der Wirtszelle und werden kaum in einen direkten Zusammenhang mit bösartigen Erkrankungen gebracht. Low-Risk-HPV vom kutaneotropen Typ rufen an der äußeren Haut benigne Warzen hervor. In seltenen Fällen kann eine Low-Risk-HPV-Infektion (HPV 6 und 11) auch zu einem nicht-kreuzerösen Tumor der Atemwege führen (RRP). (Moore et al., 1999) Außerdem können HP-Viren des kutanen Typus auch in aktinischen Keratosen (AKs) und in Keratoakanthomen (KAs) gefunden werden. (Asgari et al., 2008; Forslund et al., 2004) Kutaneotrope HPV- Viren vom Typus High-Risk-sind mit spinozellulären Karzinomen (SCC) und Basaliomen assoziiert. (Nindl, Gottschling, & Stockfleth, 2007) Beta-HPV der Spezies 1, 2 und 3 sowie gamma-HPV der Spezies 1 werden mit dem Auftreten von Spinalzellkarzinomen der Haut assoziiert. (Bzhalava et al., 2013)

## **Epidermodysplasia verruciformis**

Eine Sonderstellung haben die  $\beta$ -HPV-Typen (5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21–25, 36, 38, 47, 50), die mit der seltenen genetisch determinierten Warzenkrankheit Epidermodysplasia verruciformis (EV) assoziiert sind. Die Haut von Patienten mit EV weist eine abnorme Empfänglichkeit für HPV auf und entwickelt multiple plane Warzen. Bei der immunkompetenten Bevölkerung induzieren diese HPV-Typen keine sichtbare Hautveränderung. In ungefähr 30 % aller Fälle wird eine maligne Transformation dieser verrukösen Läsionen beobachtet. (Jablonska, Dabrowski, & Jakubowicz, 1972)

## **Mukosale Typen**

Mukokutane oder rein muköse Manifestationen treten anogenital und oropharyngeal auf. Die Inkubationszeit ist dabei sehr variabel. Sogar nach Jahren ist das Auftreten von gering- bis schwergradigen Neoplasien und Karzinomen möglich.

Low-Risk-HPV-Infektionen vom Mukosa-Typ verursachen gutartige Veränderungen wie z. B. genitale Feigwarzen (Condylomata acuminata) (HPV 6 und 11).

High-Risk-HPV und wahrscheinlich karzinogene HPV-Typen (68, 73) sind in der Lage, ihre DNA in das Genom der Wirtszelle zu integrieren und virale Onkogene zu exprimieren. (Gutiérrez et al., 2015) Diese inhibieren die Apoptose und es kommt zu Mutationen, die am Ende in einer bösartigen Transformation enden. Somit entstehen

zunächst Krebsvorstufen, die intraepithelialen Neoplasien und mehrere Jahre später durch eine persistierende Infektion invasive Karzinome (SCC) im Bereich des Anus, Zervix, Penis oder der Vulva. (Clark, Hartley, & Geh, 2004; Schiffman, Castle, Jeronimo, Rodriguez, & Wacholder, 2007)

### 1.3 Epidemiologie

HPV-Infektionen treten weltweit mit erheblich unterschiedlichen Prävalenzen auf und variieren von 3 % in Spanien und 39 % auf Honduras. (de Sanjosé et al., 2003; Ferrera et al., 1999; Forcier & Musacchio, 2010) Vermutlich durch sexuelle Aktivität infiziert sich ein Großteil der Bevölkerung irgendwann mit unterschiedlichen HPV-Typen (v. a. alpha-Papillomaviren), wenngleich die Mehrheit der Infektionen ohne Symptome verläuft und in 60–90 % der Fälle nach sechs bis 18 Monaten nicht mehr nachweisbar ist. (Schiffman et al., 2007)

Die Inzidenz genitoanaler Warzen betrug 2006 in Australien 219 pro 100.000 Einwohner aller Altersgruppen. In der Altersgruppe von 20 bis 29 Jahren war sie am größten, wobei Frauen häufiger betroffen waren. (Pirota et al., 2010) Im Alter von 10 Jahren bis einschließlich 79 Jahren, betrug die Inzidenz 2006 in Deutschland durchschnittlich 169 pro 100.000. Frauen waren dabei ebenfalls häufiger betroffen und der Altersgipfel lag bei den 20- bis 29-Jährigen. (Kraut, Schink, Schulze-Rath, Mikolajczyk, & Garbe, 2010)

Bei Männern ist die genitale HPV-Prävalenz in allen Altersstufen über 30 %. Es ist kaum eine Abnahme mit zunehmendem Alter zu verzeichnen. Bei gesunden, sexuell aktiven Männern sind somit anogenitale HPV-Infektionen sehr häufig, was mit häufigen Reinfektionen erklärt wird. (Giuliano et al., 2011)

Peniskarzinome liegen weltweit mit einer Inzidenz von unter 1 pro 100.000 vor, Analkarzinome geschlechts- und regionabhängig mit einer Inzidenz von 0,3–1 pro 100.000 im Jahr. (M. Frisch, 2002)

Im Gegensatz zu Männern liegt, nach zahlreichen Studien zu urteilen, die zervikale HPV-Prävalenz bei jungen Frauen zwischen 10 und 52 % und nimmt mit Alterszunahme für High-Risk-HPV auf unter 10 % ab. (Stanley, 2010; Wheeler et al., 2013) Studienergebnissen von 2008 mit Zytologien von 576.281 weltweit untersuchten Frauen zufolge, lag die HPV-Prävalenz bei 32,1 %. Die höchste HPV-Prävalenz wurde in Asien (57,7 %) und die niedrigste in Westeuropa (3,7 %) registriert. Am häufigsten identifiziert wurden HPV 16 mit 9,5 % gefolgt von HPV 18 mit 6,2 %.



2012 lag die Zahl der Neuerkrankungen an Gebärmutterhalskrebs weltweit bei 527.600 Frauen und 265.700 Todesfällen. Somit ist das Zervixkarzinom die vierthäufigste geschlechtsspezifische diagnostizierte Neoplasie bei Frauen (zweithäufigste in Entwicklungsländern) sowie die vierthäufigste Todesursache (dritthäufigste in Entwicklungsländern) unter allen Karzinomen. Fast 90 % aller Todesfälle durch ein Zervixkarzinom sind in Entwicklungsländern zu registrieren (Inzidenzrate pro 100.000, altersstandardisiert: Ostafrika 42,7, Melanesien 33,3, Südafrika 31,5, Zentralafrika 30,6, Westafrika 29,3, Zentralamerika 23,5, Karibik 21,0, Südamerika 20,3). (Torre et al., 2015)

In China wurde eine erhöhte Prävalenz mit High-Risk-HPV-Infektionen (54,4 %) bei Frauen unter 20 Jahren beobachtet. (Li et al., 2006)

Bei schwangeren Frauen aus Mexiko wurde bei einer Studie HPV 18 als häufigster Subtyp identifiziert. Dabei konnte in allen gewonnenen Gewebeproben aus Zervix und Plazenta HPV-DNA in 75 % und 47 % nachgewiesen werden. (Uribarren-Berrueta, Sánchez-Corona, Montoya-Fuentes, Trujillo-Hernández, & Vásquez, 2012)

Vulvakarzinome sind mit einer Inzidenz von 0,5 bis 1,5 und Vaginalkarzinome mit 0,3 bis 0,7 pro 100.000 selten zu finden. (Parkin & Bray, 2006)

## 1.4 Risikofaktoren für HPV-Infektionen

Geschlechtsverkehr ist einer der Hauptrisikofaktoren für eine HPV-Infektion, der mit häufig wechselnden Sexualpartnern weiter steigt. (Burchell, Winer, de Sanjosé, & Franco, 2006; Giuliano et al., 2007) Ebenfalls ist eine Ansteckung über Schmierinfektionen (Sonnex, Strauss, & Gray, 1999), reinen Körperkontakt oder aber durch verschmutzte Objekte denkbar. So werden als mögliche Infektionsquellen Gegenstände wie Klobrillen oder Türgriffe, die mit genitoanal HPV kontaminiert sind, diskutiert. (Strauss, Sastry, Sonnex, Edwards, & Gray, 2002) Während des Geburtsvorgangs ist eine Übertragung von der Mutter auf das Baby möglich und kann anogenitale Warzen oder Larynxpapillome induzieren. (Ingram et al., 1992)

Neben Rauchern zählen immunsupprimierte Personen als Risikogruppe für anhaltende HPV-Infektionen, Dysplasien und HPV-assoziierte Karzinome. (Tota, Chevarie-Davis, Richardson, & Franco, 2011) Rauchen wirkt sowohl systemisch als auch lokal immunsuppressiv, da es humorale und zellvermittelte Immunprozesse unterdrückt. (Kaderli, Schnüriger, & Brügger, 2014)

HIV-infizierten Männern und Frauen leiden häufig an genitalen und analen HPV-Infektionen und dementsprechend ist das Risiko für die Ausbildung anogenitaler Dysplasien und Karzinome in einer Studie bis zu 37-fach höher als in der Allgemeinbevölkerung. (Morten Frisch, Biggar, & Goedert, 2000; Silverberg et al., 2012) Homosexuelle Männer bilden eine Hochrisikogruppe für anale HPV-Infektionen, da die Partneranzahl, die Sexualkontakte und die Prävalenz einer immunsupprimierenden HIV-Infektion meist höher sind als bei heterosexuellen Menschen. (Chin-Hong et al., 2004; Manning et al., 2007) 35–52 % HIV-positiver Männer, die sexuellen Kontakt mit ihrem gleichen Geschlecht haben, weisen hochgradige anale Neoplasien (AIN II/III) auf und die Inzidenz für die Ausbildung eines Analkarzinoms liegt bei mehr als 100 Erkrankungen pro 100.000 Personen pro Jahr. (Alexander Kreuter et al., 2010; Palefsky et al., 2005) Bei HIV- Erkrankten werden in deren Kondylome bis zu 56 % hochgradige Dysplasien gefunden. (Wieland & Kreuter, 2017) Die Anzahl der wechselnden Geschlechtspartner stellt den bedeutendsten unabhängigen Risikofaktor für eine Infektion mit HPV dar. (Evander et al., 1995)

## 1.5 HPV-assoziierte Neoplasien der anogenitalen Schleimhäute

### 1.5.1 Feigwarzen (*Condylomata acuminata*)

In der Literatur werden spitze Kondylome oder Feigwarzen als die häufigsten gutartigen Tumore der äußeren Region der Genitalien und des Analbereichs beschrieben. Nach einer Infektion mit einem mukösen Low-Risk-HPV treten diese im Alter von 15 bis 49 Jahren mit einer Prävalenz von 1 % auf. (Gall, 2001). Das unten angeführt Foto zeigt das typische Erscheinungsbild einer Feigwarze am Anus (Abb.5)

#### Verlauf und Symptome

Neben dem Anogenitalbereich treten Feigwarzen auch im Mundraum (Sen, Shah, Sheikh, & Chatterjee, 2018), der Konjunktiva (Lass, Jenson, Papale, & Albert, 1983) sowie im oberen Respirationstrakt auf (Tanaka & Alawi, 2018). Prädilektionsstellen sind Körperbereiche mit Hautfalten und erhöhter Hautfeuchtigkeit.

Bei *Condylomata acuminata* handelt es sich um Linsen- bis Bohnengroße, exophytisch wachsende Papeln. Selten treten diese einzeln auf, es wird die Neigung zu einer flächenhaften Beetbildung beschrieben. In seltenen Fällen sind gewaltige Konglomerate von Tumoren vorzufinden, die infiltrierend wachsen und fokale Dysplasien oder bereits invasive Anteile eines SCC (Squamous Cell Carcinoma Antigen) aufweisen können (*Condylomata gigantea*, Buschke-Löwenstein). (Bastola, Halalau, Kc, & Adhikari, 2018) Sie haben eine rötliche, grau-bräunliche oder weiße Farbe. Humane Papillomaviren der Gruppe Low-Risk (HPV 6, 11 u. a.) sind für diese ursächlich. Folgendes Foto aus der Dermatologischen Klinik der LMU München zeigt das typische Erscheinungsbild einer Feigwarze am After.



**Abbildung 5: Perianale Genitalwarzen in der Cutis des M. corrugator ani. (Fotolabor der Dermatologischen Klinik München)**

**Kondylome sind meist nicht druckschmerzhaft und zudem weich. Größe und Form der Genitalwarzen kann sowohl persistieren als auch stark zunehmen. Eine komplette restitutio ad integrum ist jedoch relativ selten. Ein Wiederauftreten der Kondylome erfolgt nach chirurgischer Entfernung und Abheilung in ca. 25–70 % der Fälle. Genitalwarzen sind in der Regel asymptomatisch und können bei starkem Befall Juckreiz, Schmerzen, Kontaktblutung oder Brennen hervorrufen. (Gerd Gross et al., 2008)**

### **Lokalisation**

Bei Männern finden sich Feigwarzen an der Glans und am Eichelrand des Penis, am Frenulum, am Penisschaft und im perianalen Bereich. (Knoblich & Failing Jr, 1967) Genitoanale Feigwarzen treten bei MSM häufiger auf als bei heterosexuellen Männern. (Silvera, Smith, Swedish, & Goldstone, 2014)

Bei Frauen befinden sich Kondylome im äußeren Genitalbereich. In den meisten Fällen befinden sich Kondylome im Bereich der Vulva. Weniger häufig betroffen ist die Vagina. Seltener lassen sich Kondylome am Gebärmutterhals feststellen. Frauen mit Analkondylomen sollten nach Analverkehr befragt und weiteren Feigwarzen inspiziert werden. (Zur Hausen, 1976)

### 1.5.2 Intraepitheliale Neoplasie

Dem HPV-assoziierten Karzinom geht eine dysplastische Transformation bzw. ein Neoplasma im Epithel voraus. Histologisch identifizierte intraepitheliale Neoplasien (IN) weisen onkogene Typen von der DNA des HPV (HPV 16, 18 u. a.) auf. Dabei wird zwischen leichtgradigen, mäßigen und schweren Neoplasien unterschieden (Grad I–III).

Am Beispiel des Analkarzinoms wird eine geringgradige Dysplasie als anale intraepitheliale Neoplasie (AIN I) bezeichnet und weist histologisch Zellproliferationen mit kleinen Zell- und Kernatypien sowie Koilozyten mit vergrößerten irregulären Kernen auf.

Eine mittelgradige Dysplasie von moderater Stärke (AIN II) besitzt schmale basaloide Zellen mit erhöhtem Kern-Plasmaverhältnis und befindet sich in den unteren zwei Dritteln des Anodermepithels.

Alle Epithelschichten sind bei einer analen intraepithelialen Neoplasie (AIN III) durch atypisches Plattenepithel ersetzt. (Fenger & Nielsen, 1986)

Besitzt das Anodermepithel der AIN III karzinomatöse Auffälligkeiten mit Vorwucherungen gegen das Stroma und unübliche Mitosen, während die Basalmembran intakt erscheint, ist es definitionsgemäß ein Carcinoma in situ. (Xi et al., 1998)

Abhängig von der jeweiligen Lokalisation werden die Neoplasien wie folgt unterschieden:

- Lokalisation an der Vulva (VIN)
- Lokalisation an der Vagina (VAIN)
- Lokalisation an der Cervix (CIN)
- Lokalisation am Penis und Anus (PAIN)
- Lokalisation am Anus (AIN)
- Lokalisation am Penis (PIN)

## Komplikationen

Die Prävalenz einer analen intraepithelialen Neoplasie ist bei HIV-positiven MSM am höchsten, gefolgt von HIV-negativen MSM. (Chin-Hong et al., 2008) Verschiedene Studien belegen das Risiko für eine maligne Transformation von hochgradigen analen Neoplasien von 8,6–29,0 % (SCC/AIN III; 3/35 (8,6 %); 8/72 (11,1 %); 8/27 (29,0 %)). (Scholefield, Castle, & Watson, 2005; Scholefield, Ogunbiyi, Smith, Rogers, & Sharp, 1994; Watson, Smith, Whitehead, Sykes, & Frizelle, 2006)

### 1.5.3 Karzinom

Gemeinsamer Risikofaktor für die Entstehung eines anogenitalen SCC (Zervix-, Vaginal-, Vulva-, Penis- und Analkarzinom) ist die persistierende Erkrankung von HPV des High-Risk Typus. Diese sind für das Auftreten eines Karzinoms des Gebärmutterhalses von Wichtigkeit. Bei 99,7 % der Zervixkarzinome konnten diese detektiert werden (Walboomers et al., 1999). Neben 26 % der Oropharynxkarzinome sind High-Risk-HPV-Typen auch mit 50 % der Peniskarzinome, mit 70 % der Vaginalkarzinome, mit 43 % der Vulvakarzinome und mit 88 % der Analkarzinome beider Geschlechter assoziiert. (Villain et al., 2015) Unter den High-Risk-HPV-Typen in anogenitalen Karzinomen sind HPV 16 (40,9 %–82,2 %) und HPV 18 (2,6 %–18,1 % in 44,7 % der Adenokarzinome der Zervix) die dominierenden Subtypen. (Carter et al., 2001) Der untenstehenden Tabelle kann die detaillierte Aufschlüsselung der Prävalenz von HPV-Subtypen in analen, vulvären und vaginalen intraepithelialen Neoplasie, sowie Anal- und Vaginalkarzinomen entnommen werden (Tab.2).

Anhand einer Gewebebiopsie wird die Diagnose für ein anogenitales Karzinom gestellt, wobei der größte Anteil auf Plattenepithel- (SCC) und Adenokarzinome entfällt. Mischformen und neuroendokrine Karzinome sind dagegen seltener zu beobachten. (Smith, Tiffany, Qualls, & Key, 2000)

### HPV-Subtypen

	6	11	16	18	31	33	58
Neoplasie (IN)	%	%	%	%	%	%	%
VIN I	22,4	9,0	9,8				
VIN Í/III			71,9	5,0		8,0	
VIN CE vulvär			32,2	4,4		4,5	
VAIN I			23,4				
VAIN II/III			57,6	6,9			5,9
VAIN CE vaginal			53,7	7,6	5,6		
AIN I	36,2	18,1	37,2	21,3			
AIN II/III			59,8	17,4		13,6	13,1
AIN CE anal			73,4	5,2		4,8	

**Tabelle 2: Prävalenz von HPV-Subtypen in vulvärer intraepithelialer Neoplasie (VIN I–III), Vulvakarzinom (CE vulvär), vaginale intraepitheliale Neoplasie (VAIN I–III), Vaginalkarzinom (CE vaginal), anale intraepitheliale Neoplasie (AIN I–III), Analkarzinom (CE anal) in Prozent (%). (De Vuyst, Clifford, Nascimento, Madeleine, & Franceschi, 2009)**

## 1.6 Klinik und Diagnostik

Anogenitale HPV-Infektionen werden in latent, klinisch oder subklinisch unterteilt. Die zur Diagnosestellung verwendbaren Verfahren sind somit auch passend zur jeweiligen Infektionsform zu wählen.

So lässt sich zum Beispiel in latenten HPV-Infektionen nur mittels molekularbiologischer Analysen virale DNA nachweisen. Klinische Läsionen dagegen sind ohne oder mit optischen Hilfsmitteln (Inspektion, Kolposkopie, Anoskopie) visuell erkennbar, während subklinische Infektionen zunächst mit dem Aufbringen von Lösungen visualisiert werden müssen.

Bei fortgeschrittenem Analkarzinom können Patienten unterschiedliche Symptome aufweisen, die in Intensität, Art und Anzahl variieren. Als häufigste Symptome bei einem Analkarzinome können rektale Blutungen, Schmerzen oder das Gefühl der

Massenzunahme im Bereich des Anus (bei mechanischer Manipulation beim Stuhlgang oder sexueller Aktivität) auftreten. Weitere Symptome können perianaler Juckreiz oder veränderter Stuhlgang sein.

### 1.6.1 Histologie

Weitere Analysen unter Einbezug einer Gewebeprobe wird bei klinisch unsicherer Diagnostik, bei Frührezidiven, bei atypischer Präsentation sowie bei ausbleibendem Therapieerfolg eingeleitet. Eine histologische Untersuchung ist ebenfalls bei warzenähnlichen Hautveränderungen über einem Zentimeter und bei Genitalwarzen bei immunsupprimierten Patienten induziert. Intraepitheliale Neoplasien müssen histologisch gesichert werden, während Feigwarzen oder Karzinome oft klinisch diagnostiziert werden können. Dabei ist vorab die anatomische Lokalisation anzugeben, um eine genaue Zuteilung der intraepithelialen Neoplasie nach Schweregrad I–III (IN) vornehmen zu können. Die Einteilung des Schweregrades orientiert sich an dem Ausmaß der Dysplasien (Tab3.)

Atypische Keratinozyten und Parakeratosen über alle Schichten hinweg sind im meist verdickten Plattenepithel nachweisbar. Benigne Warzen lassen sich histologisch eindeutig von intraepithelialen und invasiven Stachelzellneoplasien abgrenzen. Warzen im Genitalbereich weisen typische degenerative Veränderungen der Zellmorphologie auf. Zu diesen gehören die perinukleäre Vakuolisierung der Stachel- und Körnerzellen. Außerdem lassen sich vermehrt dilatierte Blutgefäße im Korium detektieren. (Gerd Gross et al., 2008)

<b>Abkürzung</b>	<b>Definition</b>
IN	Intraepitheliale Neoplasie
IN I	Geringgradige Dysplasie
IN II	Moderate, mittelgradige Dysplasie
IN III	Schwere, hochgradige Dysplasie

**Tabelle 3: Histologische Terminologie bei Berichten über Gewebebiopsien.**

**Neoplasie bezeichnet den pathologischen Prozess der Tumorbildung und des Tumorwachstums; Dysplasie beschreibt das krankhafte Gewebewachstum. IN I ist mit dem zytologischen Befund LSIL vergleichbar; HSIL ist mit den histologischen Befunden IN II, IN III oder einem carcinoma in situ vergleichbar.**



### **1.6.2 Zytologie/PAP-Test**

Als weitere Screeningverfahren dienen zytologische Abstriche für Karzinome und deren Vorläufer. Mittels Papanicolaou-Färbung und Bethesda-Klassifikation kann zwischen normalen Befunden und verschiedenen Atypien unterschieden werden.

Dabei muss beachtet werden, dass eine Korrelation zwischen Zytologie und Histologie nur eingeschränkt möglich ist und somit die histopathologische Aufarbeitung weiterhin zu bevorzugen ist. (Ortoski & Kell, 2011)

### **1.6.3 Molekularbiologischer HPV-DNA-Nachweis**

Hierbei können an entnommenen Gewebeproben einzelne HPV-Subtypen nachgewiesen werden, die von karzinogenen über wahrscheinlich karzinogene bis hin zu nichtkarzinogenen Subtypen reichen. Die Detektion von HPV-DNA ist nicht Teil der Alltagsdiagnostik, sollte aber neben der histologischen und zytologischen Beurteilung erfolgen, um verruköse Karzinome und hochgradige intraepitheliale Neoplasien auszuschließen. (Dietrich et al., 2015)

### **1.6.4 Anoskopie, Kolposkopie, Urethroskopie**

Zur Untersuchung und Entnahme von Auffälligkeiten (Ulzerationen, Verdickungen) des Enddarms, der Portio bzw. der Vagina und der Urethra werden endoskopische Verfahren verwendet. Eine hochauflösende Anoskopie (high-resolution anoscopy, HRA) erfolgt, wenn perianale Auffälligkeiten vorliegen. (Ortoski & Kell, 2011)

Finden sich Warzen im Bereich des Meatus urethrae, ist eine diagnostische Urethroskopie induziert. Die Zytologie oder Molekulargenetik mittels eines Abstrichs der Urethra oder analer Schleimhaut, wurde nicht als Standard bei der Diagnostik von HPV-assoziierten Erkrankungen aufgenommen. Da bei 25 % der weiblichen Patienten, die Genitalwarzen aufweisen, eine HPV-Infektion der Vagina vorliegt und die Hälfte dieser eine Dysplasie aufweisen, sollte zusätzlich zur Kolposkopie eine Zytologie erfolgen. (G Gross, 2001)

### **1.6.5 Essigsäure-Test**

Bei diesem Test können subklinische Läsionen durch Aufbringen einer Essigsäure-Lösung (3-%-ig für Schleimhäute, 5-%-ig für die Haut) mit Hilfe eines Wattetupfers oder einer Mullkompressen visualisiert werden. Nach kurzer Einwirkungszeit folgt die Betrachtung unter der Lupe oder mit Koloskop. Eine scharf begrenzte Weißfärbung mit sichtbaren Gefäßen der hyperkeratotischen Stellen ist kennzeichnend für einen positiven Test. Der Test kommt nach einer konkreten Vermutung auf eine Dysplasie zum Einsatz und dient präoperativ zur Bestimmung der Ausdehnung. Der Test weist jedoch eine niedrige Sensitivität als Indikator für eine HPV-Infektion auf. (G Gross, 2001; Jonsson et al., 1997)

## **1.7 Therapeutische Möglichkeiten**

Es kommen lokale Medikamente und ärztliche Interventionen zum Einsatz, wobei allen topischen Therapien die Wirkung über die Induktion einer lokalen Entzündungsreaktion gemeinsam ist. Eine antivirale Therapie, die speziell gegen HPV gerichtet ist, existiert nicht. (Dietrich et al., 2015) Die heute bekannten Therapieformen sind rein symptomatisch. HPV-DNA kann stumm im Gewebe persistieren und zu einem erneuten Ausbruch von Läsionen führen. Das Risiko für ein Rezidiv an einer zuvor erfolgreich behandelten Lokalisation, entspricht je nach Therapieoption 20–30 %. (G Gross, 2011)

### **1.7.1 Topische Therapie**

#### ***1.7.1.1 Podophyllotoxin 0,5%-Lösung, Podophyllotoxin 0,15%-Creme***

Es handelt sich um ein Naturprodukt, das aus dem Wurzelstock des Fußblatts (*Podophyllum peltatum* L.) gewonnen wird. Es ist als Creme oder als Lösung erhältlich und wird vom Patienten zweimal täglich auf die genitale Warze aufgetragen. Podophyllotoxin ist teratogen und wird daher heute bei vergleichsweise niedriger Wirksamkeit nicht mehr zur Therapie genitaler Warzen empfohlen. Bei der Behandlung

multipler Warzen sind schmerzbegleitete Erosionen und Schwellungen nicht selten. Auch eine Paraphimose stellt eine gehäuft auftretende negative Begleiterscheinung dar. Dies bedingt zwangsläufig eine Behandlungspause. (Gerd Gross et al., 2008)

#### **1.7.1.2 Imiquimod 5%-Creme**

Imiquimod ist ein Immunmodulator. Durch die Förderung der Bildung von Zytokinen wird das Immunsystem stimuliert und Immunzellen werden aktiviert. Primär wirkt Imiquimod als Toll-like receptor(TLR)7-Agonist, was den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B aktiviert.

Durch die gesteigerte Freisetzung von Zytokinen wird über eine Entzündungsreaktion die Apoptose eingeleitet. Die Anwendung auf Genitalwarzen dreimal pro Woche vor dem Schlafengehen wird über einen maximalen Zeitraum von 16 Wochen empfohlen. Nachteilig ist die enorme Anwendungsdauer, die Nebenwirkungen wie rubor und tumor im Genitalbereich zur Folge tragen kann. Die Rezidivrate liegt unter 20 %. (Inkster, Szmulowicz, Wiland, & Wu, 2016)

#### **1.7.1.3 Interferon-beta-Gel**

Eine Lokalthherapie mit Interferon-beta-Gel kann nach Abtragung von externen genitoanalen Warzen mittels CO<sub>2</sub>-Laser erfolgen. Die Anwendung erfolgt mehrmals täglich über einen Monat hinweg. Besonders bei rezidivierenden Genitalwarzen ist diese Therapie empfehlenswert. Interferon-beta-Gel ist für die Behandlung von Schwangeren sowie intravaginale und intraanale Kondylome nicht zugelassen. (Gerd Gross et al., 2008)

#### **1.7.1.4 Grünteeextrakt**

Catechine, gewonnen aus der Teepflanze (*Camellia sinensis* (L.)O. KUNTZE), werden zur Therapie äußerer Kondylome im Genital- und Perianalbereich verwendet. Die Salbe wird dreimal täglich für eine maximale Therapiedauer von 16 Wochen angewendet. Entscheidende Vorteile bei der Anwendung von Grünteeextrakt sind kaum vorhandene Nebenwirkungen und eine sehr geringe Rezidivrate von 6,5–8,3 %,

die bei einer randomisierten Doppelblind-Studie mit 502 Patienten nachgewiesen wurde. Hierbei kam es in 56,3–57,2 % der Fälle zur völligen Abheilung der genitalen Warzen. (Tatti et al., 2008)

## **1.7.2 Chirurgische Therapie**

### **1.7.2.1 Chirurgische Verfahren**

Multiple chirurgische Therapiemöglichkeiten von Kürettage, Kryotherapie bis hin zu Elektrokauter oder Laserverfahren kommen als primäre Therapie häufig zum Einsatz. Vor allem bei großen, beetförmigen und rezidivierenden Warzen sowie bei unklaren und malignitätsverdächtigen Befunden werden diese bevorzugt angewendet. Eine lokale Anästhesie ist dabei obligat. Als nachteilig stellen sich die Gefahr der Narbenbildung sowie die Rauchentwicklung bei CO<sub>2</sub>-Lasern und Elektrokauter mit infektiösfähigen Viruspartikeln heraus. (Gerd Gross et al., 2008)

### **1.7.2.2 Trichloressigsäure**

Durch die Anwendung der hochdosierten Säure (verwendet bis zu 85 %) kommt es zur Zellnekrose und kann somit zur Entfernung von Warzen eingesetzt werden. Mittels eines Wattetupfers wird die Säure im wöchentlichen Abstand auf die Warzen appliziert. Behandeln lassen sich hiermit vor allem kleine Warzen im Schleimhautbereich. Nachteilig ist indes das Brennen beim Auftragen der Tinktur. Die Neutralisation der Säure kann bei Überdosierung mit Natriumbicarbonat erfolgen. Bei Schwangeren ist die Therapie mit Trichloressigsäure ebenso einsetzbar. (Varma, Lathrop, & Haddad, 2013)

### **1.7.2.3 Photodynamische Therapie**

Die photodynamische Therapie besteht aus zwei Schritten: der topischen oder systemischen Applikation eines Photosensibilisators und der anschließenden Beleuchtung der zu behandelnden Region mit Licht roter Wellenlänge (630 nm). Der durch das Licht freigesetzte Singulett-Sauerstoff hat eine lokale, zytotoxische Wirkung und induziert Nekrose und Apoptose mit nachfolgender Remission der Hautveränderung. Der Photosensibilisator 5-Aminolävulinsäure (ALA) wird zu Protoporphyrin IX metabolisiert und akkumuliert selektiv in den schnell proliferierenden Zellen der viralen Akanthome. Außerdem kann die Anreicherung des Porphyrins in Kondylomen zur Photodynamischen Diagnostik (PDD) genutzt werden. Blaues Licht führt zur Abgrenzung verdächtiger Areale durch rot-violette Fluoreszenz von umliegendem Gewebe. (Fehr et al., 2002)

## **1.8 Prävention**

### **1.8.1 Impfungen**

Nach aktuellem Stand stehen drei unterschiedliche prophylaktische Impfstoffe zur Verfügung. Mit der Entwicklung von rekombinant hergestellten Impfstoffen basierend auf virus like particle (VLP), die aus synthetischen, leeren Viruskapsiden (Hauptkapsidprotein L1) bestehen, wird angestrebt, die Entwicklung des Zervixkarzinoms und anderer HPV-16- und HPV-18-assoziiertes Karzinome zu verhindern.

Die Ständige Impfkommission (STIKO) empfiehlt seit August 2007 für Mädchen (spätestens bis zum 18. Geburtstag) eine flächendeckende Immunisierung gegen humane Papillomaviren vom Typus 16 und 18 mittels Impfung zur Prävention von CIN, Vulva-Dysplasien und Genitalwarzen. Für jugendliche Männer (9-14 Jahre) wurde erst

aktuell seit der 90. Sitzung der STIKO am 15. Juni 2018 die HPV-Impfung als Standardimpfung beschlossen. (Ständige Impfkommission, 2018)

Grundlage dieser Empfehlungen ist eine multinationale Arbeit von 2011, die den Impfschutz gegenüber von mit HPV 6, 11, 16 und 18 assoziierten externen genitalen Läsionen von über 90 % zeigte. Nach Studienergebnissen konnten die Vakzine gegenüber PIN II /III einen vollständigen Schutz erreichen. (Giuliano et al., 2011)

Die letzte Impfung der Serie sollte vor erstmaligem sexuellem Kontakt appliziert worden sein. Das Impfziel der geschlechtsübergreifenden HPV-Impfung ist eine Abnahme der durch HPV assoziierten Tumore. Nach internationalen epidemiologischen Studien konnte in Ländern mit einer hohen Impfbereitschaft (Impfquote der Mädchen 75–80 %) durch die Herdenimmunisierung eine deutliche Reduktion von HPV-Infektionen und HPV-assoziierten Veränderungen im Anogenitalbereich festgestellt werden. (Chow et al., 2017)

Mit der unzureichenden Impfbereitschaft in Deutschland (42,5 % der Mädchen; Stand 2014) gelingt hierzulande bislang keine Herdenprotektion. (Rieck, Feig, Wichmann, & Siedler, 2017)

#### **1.8.1.1 Bivalenter Impfstoff**

Das bivalente HPV-16 und -18 L1-VLP-Vakzin ist ein weiterer seit 2007 in Deutschland zugelassener Impfstoff. Eine randomisierte klinische Studie zeigt eine 70-%-Wirksamkeit gegen das Zervixkarzinom. (Harper et al., 2004)

#### **1.8.1.2 Quadrivalenter Impfstoff**

Der 2006 zugelassene quadrivalente Impfstoff dient dem Schutz vor HPV 6, 11, 16 und 18.

Die VLP-Vakzine der L1-Proteine verhindern das Auftreten von HPV-16/18-induzierten CIN-II/III-Veränderungen und vulvären bzw. vaginalen intraepithelialen Neoplasien Grad II/III. Im Rahmen klinischer randomisierter Studien konnte nachgewiesen werden, dass diese Vakzine zu 90 % Genitalwarzen vorbeugen. (Villa et al., 2006)

### **1.8.1.3 Nonavalenter Impfstoff**

Der nonavalente HPV-Impfstoff schützt Frauen und Männer vor Erkrankungen im Anogenitalbereich, die mit HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 assoziiert sind. Am 10. Juni 2015 hat die EMA Gardasil®9 die Zulassung erteilt. Eine umfassende klinische Studie konnte die Wirksamkeit des nonavalenten Impfstoffes von 97,4 % gegenüber Krebsvorstufen und Karzinomen der zervikalen, vaginalen und vulvären Schleimhaut nachweisen. (Joura et al., 2015)

### **1.8.2 Kondome**

Die Benutzung von Kondomen verringert die Ansteckung mit HPV erheblich. (Burchell et al., 2006) Jedoch kann durch eine Verwendung eines Kondoms eine Infektion nicht zuverlässig verhindert werden, da nur der umschlossene Bereich des Genitals geschützt wird. (Nielson et al., 2010)

### **1.8.3 Zukunftsausblick**

Ziel dieser Studie war es, das HPV-Infektionsmuster mit den histologischen Befunden von HIV-Patienten und nicht HIV-infizierten Patienten zu vergleichen. Darüber hinaus wurde die histologische Einstufung, die von unauffälligen Befunden, IN I, IN II, IN III, bis hin zu Condylomata acuminata reichte, mit der molekularen Analyse der einzelnen HPV-Typen der vorliegenden Biopsien verglichen. Basierend auf solchen Untersuchungen könnte das Risiko einer IN-Entwicklung bei immungeschwächten Patienten bestimmt werden. Eine derartige Klassifizierung könnte die klinische Beurteilung und präventive Therapie verbessern.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign und Zielsetzung**

In der Immunambulanz der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der LMU München werden Patienten vorgestellt, die in Folge ihrer Erkrankung an dem Humanen Immundefizienzvirus (HIV) oder seltener ohne zu Grunde liegende Immunsuppression Gewebeveränderungen im Genitoanalbereich aufweisen. Diese Gewebeveränderungen werden durch Humane Papillomaviren (HPV) hervorgerufen. Diese reichen von benignen Dysplasien bis zu intraepithelialen Neoplasien und Karzinomen mit unterschiedlich starker Ausprägung im anogenitalen Bereich.

Das Patientenkollektiv dieser retrospektiven Studie beinhaltet Patienten, die von 2010 bis 2015 in der Dermatologie der LMU in München nach den Richtlinien der Deutschen AIDS Gesellschaft zur Vorbeugung von Analkrebs behandelt wurden. Gespeicherte Biopsien wurden erneut auf HPV-Subtypen analysiert und mit den Ergebnissen der vorliegenden histologischen Befundung in Korrelation gesetzt. Ebenfalls sollte festgestellt werden, ob sich das Auftreten der unterschiedlichen HPV-Subtypen bei HIV-positiven Patienten von Gewebeproben HIV-negativer Patienten unterscheidet. Die als benigne eingestuftes Condyloma acuminata wurden ebenfalls auf ihre HPV-Subtypenverteilung untersucht. Die Frage, ob und – falls ja – in welchem Umfang sich die High-Risk-HPV- und Low-Risk-HPV-Zusammensetzung mit zunehmendem Invasivitätsgrad der intraepithelialen Neoplasien ändert, sollte ebenfalls Teil dieser Arbeit sein.



## **2.2 Material**

### **2.2.1 Patientenkollektiv**

Der Patientenpool dieser retrospektiven Studie setzt sich aus Patienten zusammen, die sich in der Dermatologie 2010 bis zum Jahr 2015 im Rahmen der Krebsvorsorgeuntersuchungen einer oder mehrerer Gewebeprobenentnahmen im anogenitalen Bereich unterzogen haben und deren Gewebeproben histologisch aufbereitet und befundet wurden. Die Studie erfolgte Geschlechts-, Alters- und Nationalitätsunabhängig. Alle Daten wurden anonymisiert erhoben und verarbeitet.

### **2.2.2 Ethikkommission**

Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München bestätigte die ethische Unbedenklichkeit der geplanten vollständig anonymisierten retrospektiven Untersuchungen der Prävalenz von HPV-Subtypen in zu diagnostischen Zwecken durchgeführten Abstrichen und Gewebeproben von kutanen Neoplasien bei immunsupprimierten Patienten. Anbei ist die Genehmigung der Studie der Ethikkommission angefügt (Abb.6).



LUDWIG-  
MAXIMILIANS-  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN

ETHIKKOMMISSION BEI DER LMU MÜNCHEN



Ethikkommission · Pettenkoferstr. 8 · 80336 München

Herrn  
Dr. Markus Reinholz  
Klinik u. Poliklinik f. Dermatologie u.  
Allergologie  
Frauenlobstr. 9-11  
80337 München

Vorsitzender:  
Prof. Dr. W. Eisenmenger  
Telefon+49 (0)89 440055191  
Telefax+49 (0)89 440055192  
Ethikkommission@  
med.uni-muenchen.de

[www.ethikkommission.med.uni-muenchen.de](http://www.ethikkommission.med.uni-muenchen.de)

Postanschrift:  
Pettenkoferstr. 8a  
D-80336 München

Hausanschrift:  
Pettenkoferstr. 8  
D-80336 München

30.09.2014 Hb/sc

<b>Betreff:</b>	<b>Prevalence of HPV subtypes in pap smear and biopsy of in cutaneous neoplasias in immunosuppressed patients (n ≤ 1000)</b>
<b>Antragsteller:</b>	<b>Dr. Markus Reinholz</b>
<b>UE Nr</b>	<b>112-14</b>

Sehr geehrter Herr Dr. Reinholz,

haben Sie besten Dank für Ihr Schreiben (e-mail 29.09.2014), mit dem Sie uns um eine Unbedenklichkeitsbescheinigung für das o. g. Projekt bitten.

Sofern Sie Ihre Untersuchung anhand von Daten durchführen, die irreversibel anonymisiert sind, d. h. dass auch die Bearbeiter keinen Rückschluss auf die Daten der entsprechenden Personen erhalten, bestehen keine ethisch-rechtlichen Bedenken gegen dieses Projekt.

Vorsorglich möchte ich darauf hinweisen, dass auch bei einer positiven Beurteilung Ihres Vorhabens die Verantwortung für die Durchführung des Projektes uneingeschränkt bei Ihnen und Ihren Mitarbeitern verbleibt.

Für Ihre Untersuchungen wünsche ich Ihnen viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. W. Eisenmenger  
Vorsitzender der Ethikkommission

Mitglieder der Kommission:  
Prof. Dr. W. Eisenmenger (Vorsitzender), Prof. Dr. E. Held (stellv. Vorsitzender) Prof. Dr. C. Bausewein, PD Dr. Th. Beinert, Prof. Dr. B. Emmerich, Prof. Dr. H. U. Gallwas, Dr. B. Henrikus, Dr. V. Mönch, Prof. Dr. D. Nowak, Prof. Dr. H. H. Müller, Prof. Dr. R. Penning, Prof. Dr. K. Hahn, Prof. Dr. K. Pfeifer, Dr. Ch. Zach

**Abbildung 6: Unbedenklichkeitsbescheinigung der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München.**

### **2.2.3 Datenerhebung**

Die Erhebung der Daten erfolgte sowohl aus bereits elektronisch erfassten Daten als auch anhand von molekulargenetischen Analysen von zu diagnostischen Zwecken entnommenen Gewebeproben im Labor. Die unterschiedlichen Daten wurden vollständig anonymisiert verarbeitet. Alle Daten wurden zunächst in einer selbst erzeugten MS-Excel®-2011(Microsoft Corporation Redmond, WA, USA)-Datenbank zusammengeführt und anschließend für die statistische Auswertung konvertiert und in das Statistikprogramm IBM SPSS Statistics®, Version 23 (IBM Inc, Armonk, NY, USA) importiert.

#### **2.2.3.1 Elektronische Daten**

Alle Patienten, die sich in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik behandeln lassen, werden elektronisch erfasst. Die Erhebung der Studiendaten erfolgt dabei anonymisiert sowohl aus den elektronisch erfassten Krankenakten, den Laborbefunden, Arztbriefen, Operationsberichten, zytomorphologischen Befunden, HPV-DNA-Typisierungsberichten und dermatohistopathologischen Gutachten sowie aus der histologischen Datenbank (ZOC) der Abteilung für Dermatohistopathologie. Die Daten für diese Studie beinhalten soziodemographischen Faktoren (Alter, Geschlecht), Infektionserkrankungen (HIV), Lokalisation der Probenentnahme und Ergebnisse der dermatohistopathologischen Befunde (AIN, PIN, VIN, CondyI.Acc., ohne pathologischen Befund). Alle Daten wurden retrospektiv erfasst.

#### **2.2.3.2 Gewebeproben**

Die anogenitalen Gewebeproben wurden im Rahmen von klinischen Routinekontrollen zu diagnostischen Zwecken, die eine Biopsie umfassten, gewonnen und im histologischen Archiv aufbewahrt. Für diese Studie wurden insgesamt 245 Gewebeproben retrospektiv analysiert und auf HPV-Subtypen getestet. Dabei stammten zum Teil mehrere Gewebeproben von einem Patienten.

Die den Patienten entnommenen Gewebeproben wurden direkt in 10-%-Formaldehydlösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Von jeder intraoperativ gewonnenen Gewebeprobe wurde ein Teil für die histologische Routineuntersuchung und ein Teil für die molekulargenetische Analyse bezüglich der Typisierung und Prävalenz von HPV-DNA-Sequenzen verwendet. Hierzu wurden mehrere ungefärbte 10-µm-Paraffin-Schnitte mittels Mikrotom (Microm HM 355S, Thermo Fisher Scientific, Darmstadt, Deutschland) und zwei Hämatoxylin-Eosin(HE)(Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)-gefärbte Schnittpräparate aus verschiedenen Abschnitten jeder Gewebeprobe angefertigt. Die erneut HE-gefärbten Schnittpräparate dienen zur befundeinheitlichen histopathologischen Nachbefundung durch einen erfahrenen Dermatohistopathologen (Prof. Dr. M. Flaig). Bestimmt wurden der Schweregrad der intraepithelialen Neoplasie (IN I, II oder III) und die Risikostufe (High-Risk oder Low-Risk). Zur Kontrolle wurden alters- und lokalisationsidentische Hautproben mit unauffälligem histopathologischen Befund herangezogen. Alle folgenden histologischen und molekulargenetischen Untersuchungen wurden unter Blindbedingungen durchgeführt und die gewonnenen Daten wurden im Statistikprogramm IBM SPSS Statistics®, Version 23 (IBM Inc, Armonk, NY, USA) implementiert.

### **2.2.3.3 Kodierungsplan**

Für die anonymisiert und elektronisch zur Verfügung stehenden Daten wurde ein Kodierungsplan für die jeweiligen Items erstellt (Tab. 4). Für jede Variable wurde das passende Skalenniveau gewählt. Den Inhalten der Variablen wurden Kodenummern zugeordnet, sodass ein Kodierungsplan erstellt werden konnte. Von 150 Patienten mussten 29 Patienten auf Grund von unvollständigen Datensätzen oder nicht ausreichend vorhandenem Gewebematerial von dieser Studie ausgeschlossen werden. Somit lagen von 245 Gewebeproben am Ende 210 Gewebeproben von 121 Patienten zur histologischen und molekulargenetischen Untersuchung vor.

❖ HIV	❖ Risikoklasse
• HIV-negativ = 0	• Low = 0
• HIV-positiv = 1	• High = 1
• HIV unbekannt = 2	• Low+high = 2
❖ Alter	❖ Grading
❖ Geschlecht	• Unauffällig = 0
• weiblich = 0	• IN I = 1
• männlich = 1	• IN II = 2
❖ PAP	• IN III = 3
• NILM = 0	• Condyl.Ac. = 4
• LSIL = 1	❖ HPV 6
• HSIL = 2	❖ HPV 11
• ASCUS = 4	❖ 16
❖ Datum PAP	❖ 18
❖ Histologie ZOC	❖ 31
• unauffällig = 0	❖ 33
• AINI = 1	❖ 35
• AINII = 2	❖ 39
• AINIII = 3	❖ 42
• Condly.Ac. = 4	❖ 45
• VINI = 5	❖ 51
• VINII = 6	❖ 52
• VINIII = 7	❖ 53
• PINI = 8	❖ 54
• PINII = 9	❖ 56
• PINIII = 10	❖ 58
❖ Lokalisation Gewebeprobe	❖ 59
• Intraanal = 1	❖ 61
• Anal = 2	❖ 62
• Perianal = 3	❖ 66
• Penis = 4	❖ 67
• Vulvär = 5	❖ 68
❖ Datum Gewebeprobe	❖ 70
	❖ 72
	❖ 73
	❖ 81
	❖ 82
	❖ 83
	❖ 84
	❖ 90
	❖ 91

Tabelle 4: Kodierungsplan

## 2.3 Methode – Histologische und immunhistologische Untersuchung

### 2.3.1 DNA-Extraktion

Zunächst muss jede einzelne Proben-DNA aus den zuvor in 10%-Formaldehydlösung fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeproben extrahiert werden. Dazu wurde jeweils ein 10-µm-Schnitt von jeder in Paraffin eingebetteten Gewebeprobe angefertigt, auf einen Objektträger überführt und zur DNA-Extraktion bereits entparaffiniert.

#### 2.3.1.1 Labormaterialien

Material
Inkubator
Zentrifuge
Vortex
Einmalkanülen
Mikro-Schraubröhrchen 1,5 ml
Pipettenspitzen 10 µl, 100 µl, 200 µl
Pipetten m 10, m 100, m 200
Thermozykler

#### 2.3.1.2 Reagenzien

Reagenzien
1 M, ph 8,0 Tris-HCL
0,5 M, ph 8,0 EDTA
Tween 20
10 mg/ml Proteinase-K-Stammlösung
steriles PCR-Wasser

### **2.3.1.3 DNA-Extraktionsdurchführung**

Zur Extrahierung der DNA aus den ungefärbten, entparaffinierten Gewebeschnitten wurde zunächst ein Extraktionspuffer von 10 ml angesetzt. Dieser besteht aus 1,0 ml Tris-HCL, 0,01 ml EDTA, 0,05 ml Tween 20 und 8,94 ml sterilem PCR-Wasser. Der Extraktionspuffer wurde kräftig vermischt und zu je 1 ml auf 10 Schraubenröhrchen verteilt, die bei -20 °C eingefroren wurden. Anschließend wurden 1 ml Extraktionspuffer und 100 µl Proteinase-K-Stammlösung (10 mg/ml) in einem Schraubenröhrchen vermischt, bevor der Extraktionsmix zu 20 µl in Tubes pipettiert wurde. Die Gewebeschnitte wurden einzeln mit sterilem PCR-Wasser angefeuchtet und mit einer Einmalkanüle von den Objektträgern heruntergeschabt. Das Gewebematerial wurde dann in dem 20-µl-Extraktionsmix gelöst und mit einer Nummer kodiert und bei 56 °C über Nacht inkubiert, bis es zur Lyse des Gewebes kam. Der Prozess wurde anschließend durch Hitzeinaktivierung bei 95 °C für 10 min mit Hilfe eines Thermozyklers beendet. Diese Schritte wurden für alle Gewebeproben nach gleichem Verfahren durchgeführt. Die nummerierten Reaktionsgefäße wurden kurz abzentrifugiert, um Kreuzkontaminationen durch Verspritzen von Probenflüssigkeit im Deckelinneren beim Öffnen der Gefäße zu vermeiden, und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20 °C gelagert.

### **2.3.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)**

Dieses Diagnostikverfahren ist 1987 von Kary B. Mullis erforscht worden. (Mullis & Faloona, 1987) Durch Modernisierungen der technischen Ausführung stellt sie heutzutage ein bewährtes Verfahren dar, das es erlaubt, in vitro einen Abschnitt eines DNA-Strangs zu amplifizieren.

Die Amplifikation einer DNA-Sequenz beginnt damit, dass eine DNA-Matrize mit zwei Startermolekülen (primer) zu beiden Seiten versehen wird. Zusätzlich werden vier verschiedene Desoxynukleosid-Triphosphate mit den Basen Adenin, Cytosin, Guanin, und Thymin gebraucht.

Angeregt durch zyklische Temperaturveränderung knüpft das thermostabile Enzym DNA-Polymerase zur Ausgangs-DNA komplementäre Stränge. In mannigfacher Wiederholung folgen drei Reaktionsschritte aufeinander, um die exponentielle Vermehrung der DNA-Sequenz zu ermöglichen:

1. Denaturierung: Der DNA-Doppelstrang wird erhitzt, was zur Auftrennung beider Stränge führt und die Primeranlagerung ermöglicht;
2. Primerhybridisierung: Die spezifischen Oligonukleotide lagern sich an den Einzelstrang sequenzabhängig bei 50–65 °C an (annealing);
3. Elongation: Verlängerung in 5'3'-Richtung, abhängig je nach thermostabiler DNA-Polymerase.

Am Ende eines Zyklus gehen zwei DNA-Doppelstränge hervor.

### 2.3.2.1 Labormaterialien

Material
Zykler
Zentrifuge
Vortex
Mikroröhrchen 1,5 ml, 0,2 ml
Pipettenspitzen 10 µl, 100 µl, 200 µl
Pipetten m 10, m 100, m 200
PCR-Kühlblock

### 2.3.2.2 Reagenzien

Reagenzien
Primer A 'MY09/11'
Fragmentgröße ca. 450 Basenpaare
Primer B '125'
Fragmentgröße ca. 125–155
Basenpaare
HotStarTaq® Plus Master Mix Kit: HotStarTaq® Plus DNA-Polymerase/ PCR-Puffer mit 1,5 mM/ Magnesiumchlorid/ 0,2 mM von jedem dNTP



extrahierte DNA-Gewebeproben

---

### 2.3.2.3 PCR-Etablierung

Der Ansatz einer PCR besteht stets aus der extrahierten Gewebeproben-DNA, dem Enzym Polymerase (HotStarTaq® Plus DNA-Polymerase), Desoxyribose-Triphosphaten (0,2 mM von jedem dNTP) und zwei Oligonukleotiden (Primer A oder Primer B). Die Primer befinden sich in einer an die Polymerase angepassten Pufferlösung (PCR-Puffer mit 1,5 mM Magnesiumchlorid). Im hier vorliegenden Studienmodell wurde die Taq-Polymerase aus *Thermus aquaticus* verwendet. Der Hersteller sorgt für eine in ihrer Zusammensetzung und im pH-Wert angepasste Pufferlösung. Alle Bestandteile werden zusammen mit der DNA-Polymerase und den Desoxyribose-Triphosphaten im HotStartTaq® Plus Master Mix geliefert, was die Vorbereitung, Fehleranfälligkeit und den Ablauf vereinfacht.

Für die Analyse der in den Gewebeproben enthaltenen HPV-Genome wurden zwei verschiedene Primer-Paare verwendet, um alle auf dem LCD-Array HPV Type 3.5 möglicherweise repräsentierten HPV-Subtypen zu diagnostizieren. Beide Primer-Paare werden dazu in unabhängigen PCR-Reaktionen verwendet und anschließend beim Hybridisierungsprozess kombiniert. Das Primer-System 'MY09/11' basiert auf den Sequenzen MY09 und MY11 und erzeugt PCR-Amplifikate der Größe von ca. 450 Basenpaaren (Tab.5).

Name	Oligonukleotidsequenz
MY09	5'-CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC-3'
MY11	5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG-3'

**Tabelle 5:PCR-Primer 'MY09/11'**

A/C=M; A/G=R; A/T=W; C/G=S; C/T=Y; G/T=K



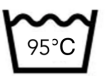

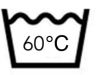

Das zweite Primer-System '125' beinhaltet mehr als 30 individuelle Sequenzen, um alle seltenen HPV-Subtypen zu amplifizieren, die nicht vom Primer-Paar 'MY09/11' vervielfältigt werden, und erzeugt PCR-Amplifikate der Größe zwischen ca. 125 und





155 Basenpaaren. Folgende Tabelle beschreibt das Pipettierschema für die DANN-Amplifikation (Tab.6).

Komponenten	Finale Konzentration	Volumen A (in µl)	Volumen B
DNA-extrahiert		2,0	2,0
HotStarTaq® Plus Master Mix:		10,0	10,0
1x PCR-Puffer			
dNTP	je 0,2 mM		
MgCl <sub>2</sub>	1,5 mM		
Taq QIAGEN	1 U		
Primer A und B		1,0	2,0
PCR-Wasser		2,0	1,0 µl
<b>Gesamtvolumen pro Ansatz</b>		<b>15,0</b>	<b>15,0</b>

**Tabelle 6: Pipettierschema für DNA-Amplifikation je Probe**

Mit der bereits extrahierten DNA der einzelnen Gewebeproben wird nun je ein PCR-Ansatz mit Primer A und Primer B pipettiert. Das Gesamt-Reaktionsvolumen betrug für Volumen A mit Primer A und für Volumen B mit Primer B jeweils 15 µl. Als Positiv-Kontrolle wird pro PCR-Durchlauf ein HPV-16-Plasmid und für die Negativ-Kontrolle Aqua destillata anstelle von Proben-DNA verwendet. Die Reaktionsgefäße wurden beschriftet und in den Zyklus überführt. Anschließend wurde der Zyklus nach der in Tabelle 7 aufgeführten Ordnung eingestellt:

Schritt	Temperatur	Dauer
initiale Hitzeaktivierung		
46 Zyklen:		
Denaturierung		
Primeranlagerung (annealing)		

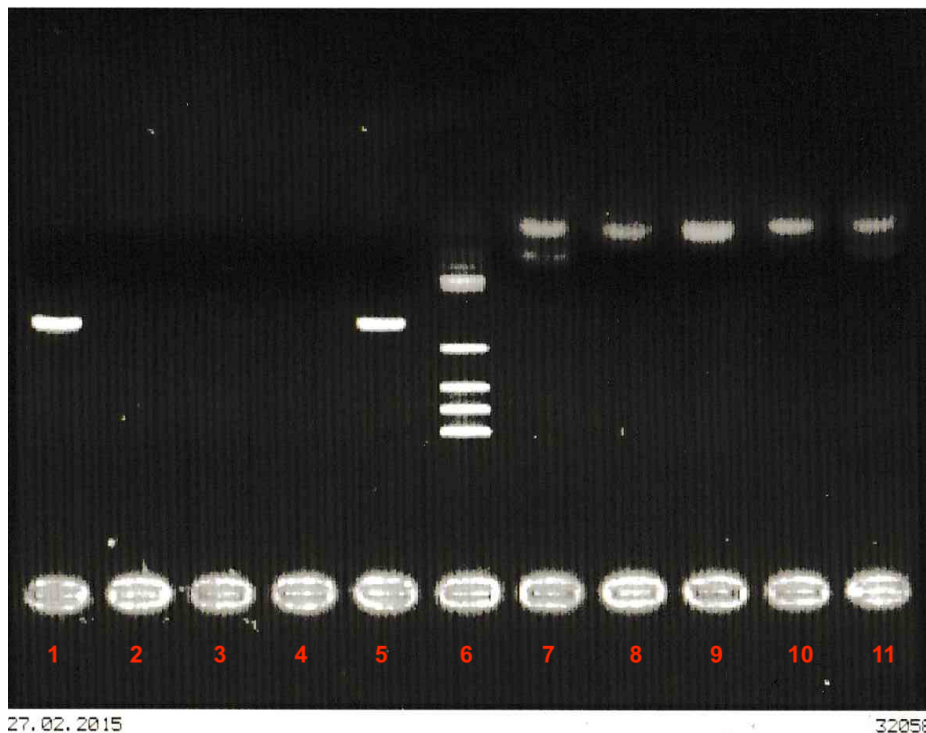
Elongation		
Finale Elongation		

**Tabelle 7: Einstellung des Zyklers für den Reaktionszyklus.**

### 2.3.3 Agarose-Gelelektrophorese

#### 2.3.3.1 Agarose-Gelelektrophorese für das Aufdröseln der DNA-Fragmente

Zur Qualitätssicherung des in der PCR vervielfältigten DNA-Stranges wurde als Kontrolle der Qualität und Reinlichkeit eine Agarose-Gelelektrophorese durchgeführt. Abbildung 7 zeigt die graphische Darstellung des Bandenmusters nach Agarose-Gelelektrophorese. Hierzu wurden 3 g Agarose in 200 ml 1x-Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan(TRIS)-Tris-Acetat-EDTA(TAE)-Puffer (2 M, 0,5 M Ethylen-Diamin-Tetraessigsäure ph 8, Acetat) suspendiert und in der Mikrowelle bis zur vollständigen Auflösung der Agarosepolymere aufgeköcht. Anschließend wurde das flüssige 1,5-%ige Agarose-Gel in einen Gelträger mit eingesetztem Kamm gegossen. Im Rahmen des Abkühlungsprozesses kommt es über Wasserstoffbrückenbindungen zur Molekülquervernetzung.



**Abbildung 7: Graphische Darstellung der DNA-Fragmente nach Agarose-Gelelektrophorese.**

**PCR-Produkte (Spuren 1–5 und 7–8) im Vergleich mit der DNA-Leiter (Spur 6) in 1,5-%-Agarose-Gel, gefärbt mit Ethidiumbromid; Spuren 1–5 stellen die PCR-Produkte mit Primer 'MY09/11' und Spuren 7–8 mit Primer '125' dar. Spuren 2, 3, 4 sind negativ für Primer 'MY09/11'.**

Die entstandene Porengröße beeinflusst dabei die Auftrennung der DNA-Stränge. Je höher die Konzentration des Agarose-Gels gewählt wird, desto kleiner ist die Porengröße. Der aus dem erkalteten Gel entfernte Kamm bildet die Taschen für die Proben. Nach Überführung des polymerisierten Gels in eine Elektrophoresekammer wurde das Gel mit einem Laufpuffer (1x TAE) vollständig bedeckt. Zur besseren visuellen Darstellung wurde den 5 µl farblosen DNA-Proben ein DNA-Loading-Buffer zugesetzt, bevor anschließend die Mischung in die Taschen des Gels pipettiert wurde. Ein Längenstandard bekannter Basenpaare wurde als Referenz parallel zu den Proben aufgetragen.

Die angelegte Spannung von 115 Volt (V) entspricht bei einer Kammerlänge von 23 Zentimetern (cm) einer Spannung von 5 V/cm. Die negativ geladenen Nukleinsäure-Stränge durchwandern das Gel von der Kathode zur Anode. Somit ist eine Auftrennung

der DNA-Stränge abhängig von ihrer Basenpaaranzahl möglich. Nach einer Laufzeit von ca. einer Stunde wurde der Gelträger in 0,04-%-igem Ethidiumbromid (EtBr) für 20 min eingelegt. Dabei lagert sich Ethidiumbromid als interkalierende Substanz in die Doppelhelix ein und ermöglicht die Betrachtung der DNA-Banden im Gel unter UV-Licht. Die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte unter dem BioDocAnalyse UV-Transluminator (Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland) bei 312 nm.

## **2.3.4 Chip-Analyse**

### **2.3.4.1 LCD-Array HPV Type 3.5**

Die DNA-Chips wurden zur Identifikation und Unterscheidung klinisch relevanter humaner Papillomaviren entwickelt. Diese DNA-Mikroarrays sind miniaturisierte Träger, auf deren Oberfläche sich in hoher Dichte und Anzahl immobilisierte DNA-Moleküle mit bekannter Sequenz in einem geordneten Raster (Array) befinden.

Jeder LCD-Chip enthält acht identische Raster mit neun mal neun Feldern, die einen Durchmesser von jeweils 300 µm haben. Drei Kontrollfelder zur Überwachung der Hybridisierung und Färbung befinden sich in den Ecken.

Das Prinzip eines DNA-Chips beruht auf der Bindung von zuvor amplifizierter Proben-DNA mit den dazu komplementären, kovalent an den Chip gebundenen DNA-Sonden. Dieser Vorgang wird als Hybridisierung bezeichnet und ist ein wesentlicher Bestandteil der modernen Molekularbiologie.

Durch Waschschrte werden ungebundene DNA-Moleküle entfernt und anschließend Signalmuster mittels Fluoreszenzscanner ausgelesen. Durch den bekannten Arrayaufbau und die Verteilung des Fluoreszenzsignals lassen sich die in der Probe vorhandenen DNA-Abschnitte bestimmen. Dabei befinden sich in jedem Raster vertikal doppelt angeordnete DNA-Sonden für insgesamt 32 HPV-Subtypen. Die vertikal doppelte Anordnung für jeden HPV-Subtypen dient als Kontrolle, da, erst wenn beide DNA-Sonden für einen HPV-Subtyp gefärbt sind, dieser als positiv gewertet werden kann.

#### 2.3.4.2 Labormaterial

Material
Wasserbad
Zentrifuge
Pipettenspitzen 10 µl, 100 µl, 200 µl
Pipetten
Vortex
Hybridisierungskammer
Drei Waschbehälter

#### 2.3.4.3 Reagenzien

Reagenzien
Hybridisierung Puffer
Modulator
Waschlösung 20-fach
Dilution-Puffer
Stain Lösung
Destilliertes Wasser
PCR A & PCR B

#### 2.3.4.4 Hybridisierung

Zu Beginn der Hybridisierung muss das Wasserbad auf die möglichst exakte Temperatur von 35 °C eingestellt werden, da eine Temperaturabweichung von nur 1 °C bereits einen Einfluss auf die Hybridisierung hat. Der LCD-Chip darf nicht vorgewärmt werden, sondern sollte Raumtemperatur aufweisen. In jede Ecke der Hybridisierungskammer wird ein Tropfen Wasser aus dem Wasserbad gegeben. Danach wird das Hybridisierungsgemisch vorbereitet. Dazu werden für jede einzelne Reaktion 22 µl Hybridisierungspuffer mit 2 µl des Modulators und jeweils 5 µl vom

PCR-A-und-B-Mix gemischt. Wenn bei einem Arbeitsvorgang alle acht Felder des LCD-Arrays, also acht Proben, gleichzeitig untersucht werden sollen, setzt sich der Hybridisierungsmix aus 220 µl Hybridisierungspuffer und 20 µl Modulator zusammen, der nach gutem Vermischen zu je 24 µl auf acht nachvollziehbar beschriftete Tubes verteilt wird.

Hinzugegeben werden nun jeweils 5 µl von der zu untersuchenden und im vorherigen Schritt amplifizierten Probe mit dem Primer A und B (PCR-A-und-B-Probenmix). Das neue LCD-Array wird individuell beschriftet und in die Hybridisierungskammer gelegt.

Anschließend werden 30 µl der einzelnen PCR-Hybridisierungsgemische ohne Kontakt auf ein einzelnes Raster pipettiert und es wird die jeweilige Zuteilung von PCR-Hybridisierungsgemisch und Raster dokumentiert. Die Hybridisierungskammer wird zügig in das 35 °C warme Wasserbad gelegt und es wird die Inkubationszeit von 30 min gestoppt. Währenddessen wird die Waschlösung vorbereitet und auf drei gleich große Behälter zu je 300 ml verteilt.

Dazu werden 50 ml des 20-fachen Waschlösungskonzentrats mit 950 ml destilliertem Wasser gemischt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird der LCD-Array aus der Hybridisierungskammer genommen, vollständig in den ersten Waschbehälter getaucht und dreimal langsam vor und zurück bewegt. Das Eintauchen des LCD-Arrays sollte dabei schnell erfolgen, um eine gegenseitige Kontamination der einzelnen Rasterinhalte zu vermeiden. Der gleiche Vorgang wird auch im zweiten Waschbehälter wiederholt, bevor der LCD-Array im dritten Behälter für 1 min inkubiert wird.

Die Trocknung des Chips erfolgt durch Zentrifugieren des LCD-Arrays mit Hilfe der CHIP-Spin-Zentrifuge für 15 sek.

#### **2.3.4.5 Markierung (Labeling)**

Nach abgeschlossener Hybridisierung erfolgt nun die Markierung (labeling) der an die DNA-Sonden gebundenen DNA-Proben. Hierzu wird das Markierungsgemisch (labeling mix) aus Dilution-Puffer und -Modulator im Verhältnis 9:1 gemischt.

Bei der Verwendung von allen acht Rastern werden 270 µl Dilution-Puffer und 30 µl -Modulator gemischt. Anschließend werden 1 µl von der Label-Lösung mit 150 µl Dilution-Puffermix gemischt, was bei der Verwendung von acht Rastern 2 µl Label-Lösung auf 300 µl Dilution-Puffermix entspricht.

Nun werden jeweils 30 µl vom hergestellten Label-Mix auf jedes Raster des hybridisierten LCD-Arrays pipettiert und der Chip wird bei Raumtemperatur für 5 min inkubiert.

Währenddessen werden die Waschbehälter mit neuer Waschlösung befüllt und der LCD-Array wird nach Ablauf der Inkubationszeit nach gleichem Schema wie bei der Hybridisierung gereinigt und getrocknet.

#### **2.3.4.6 Färbung (Staining)**

Sind alle an die DNA-Sonden gebundenen DNA-Proben erfolgreich markiert, erfolgt die Färbung (staining). Um eine Kontamination der Färbungslösung (stain solution) zu vermeiden, wird die benötigte Menge an Färbungslösung in ein frisches Reaktionsgefäß überführt.

Da für jedes Raster auf dem LCD-Array 30 µl Färbungslösung benötigt werden, sollten bei acht verwendeten Rastern nicht mehr als 300 µl Färbungslösung separiert werden. Nach Pipettierung von 30 µl Färbungslösung auf jedes Raster des LCD-Arrays erfolgt die Inkubation bei Raumtemperatur für 1 bis 3 min. Jegliche Rückstände von Waschlösung und Restfeuchtigkeit sollten unbedingt vermieden werden.

Der Färbungsprozess wird überwacht und die Färbung beendet, sobald Punkte klar sichtbar werden. Dazu wird der Chip im letzten Waschbehälter des Markierungsvorgangs für 15 sek gespült und erneut in der Chip-Zentrifuge getrocknet. Die fertig gefärbten LCD-Arrays können nun Raster für Raster auf vorhandene HPV-Subtypen manuell oder mittels Scanner ausgelesen werden.

#### **2.3.4.7 Analyse mittels Scanner PF 3650u und SlideReader-V12-Software**

Die SlideReader-V12-Software ermöglicht in Kombination mit dem entwickelten Scanner die schnelle und gleichzeitige Datenerhebung aller acht Raster auf dem LCD-Array. Mit Hilfe eines Algorithmus können die einzelnen Raster vollautomatisch auf positive Färbungspunkte untersucht und identifiziert werden.

Jeder LCD-Chip ist mit einer individuellen Identifikationsnummer versehen, die vor dem Scanprozess in der SlideReader-V12-Software abgefragt wird. Sie enthält Informationen über den Chip-Typ, die Lot-Nummer und eine individuelle ID-Nummer.



Nach erfolgreichem Scanprozess erzeugt die SlideReader-V12-Software unter dem Reiter ‚Image‘ ein Schwarz-Weiß-Bild mit einem Überblick über alle acht Raster und die positiven Färbungspunkte inklusive der drei Kontrollfelder. Unter dem Reiter ‚Sample Information‘ können individuelle Beschriftungen und Notizen für jedes einzelne Raster erstellt werden.

Außerdem können nicht bearbeitete Raster auf dem LCD-Array als leer markiert werden. Unter dem Reiter ‚Analysis‘ lässt sich jedes einzelne Raster mit graphischer Darstellung der positiven Färbungspunkte betrachten.

Zusätzlich werden die positiv getesteten HPV-Subtypen tabellarisch aufgeführt, mit einem einheitslosen Messwert, der eine Aussage über die Intensität der positiven Färbungspunkte trifft. Um sehr schwache und somit falsch positive Färbungspunkte auszuschließen, lässt sich über ‚Cut off‘ der Mindestmesswert definieren.

Über die Funktion ‚Details‘ lässt sich für jedes Raster die Größe der vom Scanner zu untersuchenden Fläche (‚Search area size‘) für die Färbungspunkte definieren, wodurch auch Einfluss auf den einheitslosen Messwert genommen werden kann. Die gewonnenen Daten können als übersichtlicher Bericht ausgedruckt oder für die Weiterverarbeitung (MS Excel, Open Office, Text Editor) gespeichert und exportiert werden (Abb.8).

Für die Studie wurde aus allen entnommenen Gewebeproben DNA extrahiert, amplifiziert und auf LCD-Chips hybridisiert, gefärbt und mittels Scanner und SlideReader-V12-Software ausgewertet. Zur Analyse wurde als einheitliche Einstellung als ‚Cut off‘ der Wert 2000 und als ‚Search area size‘ eine Größe von 30 in der SlideReader-V12-Software gewählt.

## HPV 3.5

## Detail Report



Laboratory Dermatology München  
User Hundsdoerfer

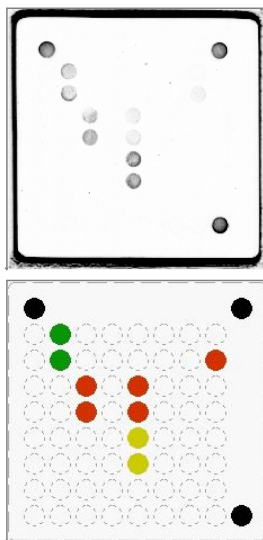
Report No. 0098-148-017-Field-6  
Date 2015-04-30

Chip-Type HPV 3.5  
Cs.No. 0098  
Image 0098-148-017.tif

Lot 148  
ID 017

Cut Off 2000  
Sample ID  
Define 1  
Define 2  
Define 3  
Define 4

Comment



Color Code  
■ HighRisk  
■ IntermediateRisk  
■ LowRisk

Features manually set by user

None

None

ID	Identity	Value	10,000 20,000 30,000 40,000 50,000 60,000
1	Hyb-Control	36563	
2	Type 06	0	
3	Type 11	10700	
4	Type 16	0	
5	Type 18	0	
6	Type 31	0	
7	Type 33	0	
8	Type 35	0	
9	Type 39	0	
10	Type 42	0	
11	Type 44	0	
12	Type 45	13120	
13	Type 51	0	
14	Type 52	3169	
15	Type 53	0	
16	Type 54	0	
17	Type 56	0	
18	Type 58	0	
19	Type 59	0	
20	Type 61	0	
21	Type 62	0	
22	Type 66	23035	
23	Type 67	0	
24	Type 68	0	
25	Type 70	0	
26	Type 72	0	
27	Type 73	0	
28	Type 81	0	
29	Type 82	0	
30	Type 83	0	
31	Type 84	0	
32	Type 90	0	
33	Type 91	0	

**Abbildung 8: Beispielbericht mit graphischer LCD-Chip-Darstellung und HPV-Subtypen-Ergebnistabelle mit Signalwerten, Intensitätsbalken und farblicher Risikobewertung.**

### **2.3.5 Statistische Auswertung**

Die statistische Analyse wurde mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics, Version 23 (IBM Inc, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Erstellung der entsprechenden Abbildungen erfolgte mit GraphPad (GraphPad Software5 Inc, La Jolla, CA, USA).

Deskriptiv wurden die Ergebnisse mittels absoluter und relativer Häufigkeitsverteilung dargelegt. Auch die Darstellung von Mittelwerten kam zum Einsatz. Es wurden Tabellen mit Häufigkeitsverteilungen und Grafiken erstellt. Die Signifikanztestung (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ) erfolgte mittels Pearson  $\chi^2$ -Test und dem exakten Test nach Fisher. Die Stärke der jeweiligen Effekte wurde mittels Cramer's V bestimmt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Geschlechterverteilung

Die Geschlechterverteilung der 121 Patienten beläuft sich auf 14 weibliche und 107 männliche Personen. Prozentual besteht die Kohorte aus 88,4 % männlichen zu 11,6 % weiblichen Patienten.

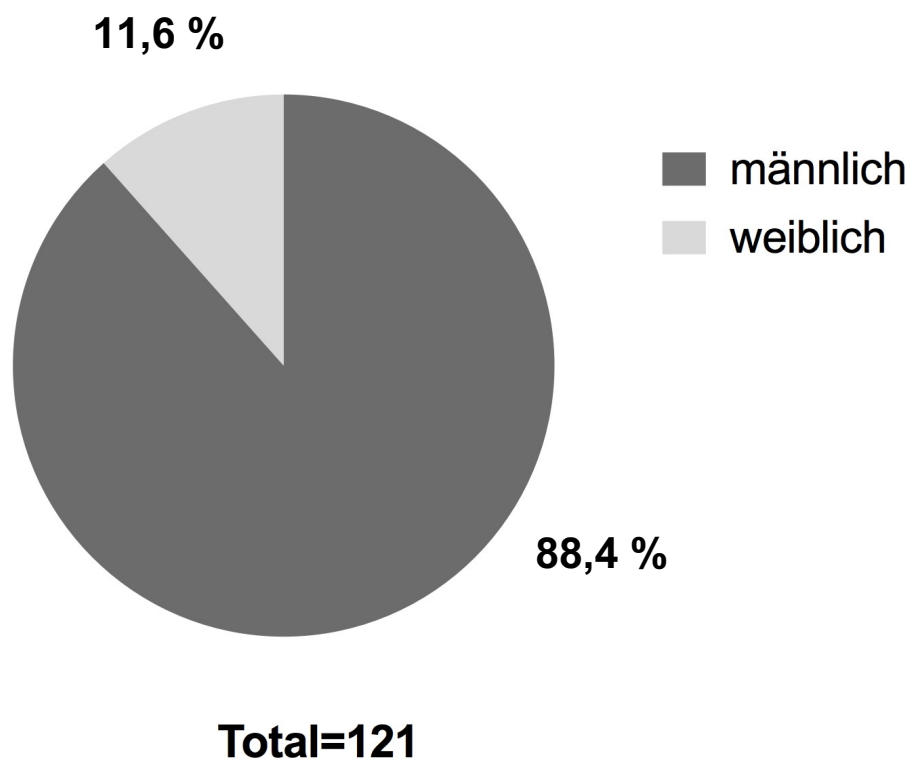


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Geschlechterverteilung im Kreisdiagramm.

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten setzen sich im Hinblick auf das Geschlecht aus 88,4 % männlichen und 11,6 % weiblichen Patienten zusammen.

### 3.2 Altersverteilung

Zunächst musste die Altersverteilung der Patienten begutachtet werden. Das mittelwertige Alter beträgt (Jahre  $\pm$ SD)  $47,79 \pm 14,28$  Jahre. Dabei war das niedrigste Alter 24 Jahre und der älteste Proband 87 Jahre alt. Aus der Altersgruppe 18–25 Jahre wurden  $n = 3$  (2,5 %) Patienten Gewebeproben entnommen. In der Gruppe 26–35 Jahre waren es  $n = 23$  (19,0 %), in der Gruppe 36–45 Jahre  $n = 31$  (25,6 %) und in der Gruppe 46–60 Jahre  $n = 41$  (33,9 %). Aus der Altersgruppe über 60 Jahre waren es  $n = 23$  (19,0 %).

Alter	Insgesamt	
	N	%
<18	0	0,0
18–25	3	2,5
26–35	23	19,0
36–45	31	25,6
46–60	41	33,9
>60	23	19,0
<b>Insgesamt</b>	<b>121</b>	<b>100,0</b>

**Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung der Altersgruppen absolut und prozentual.**

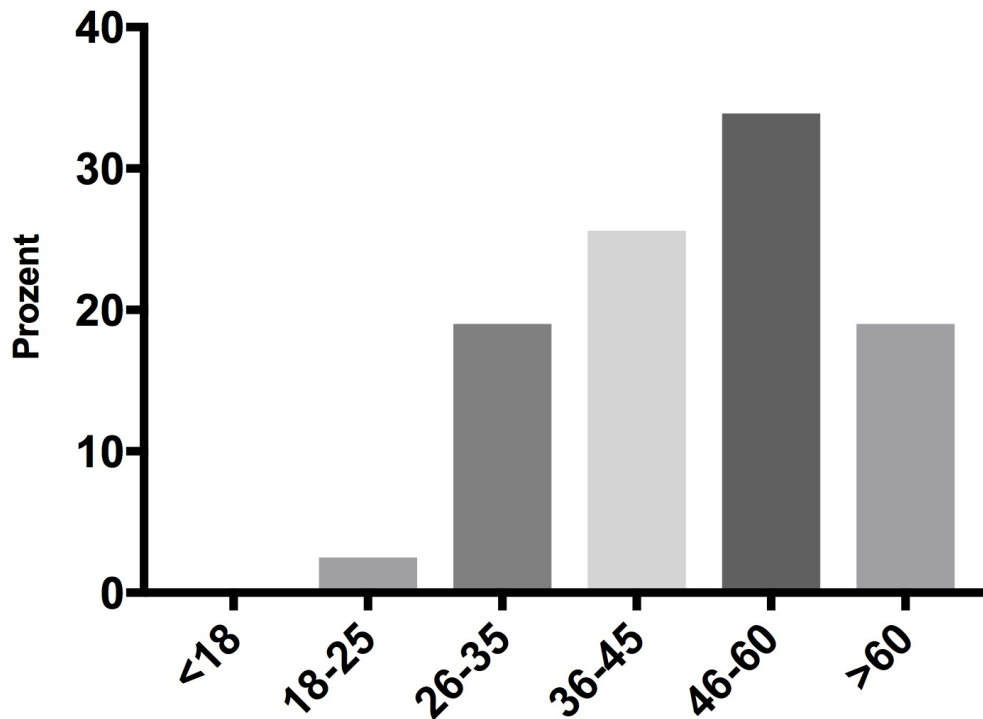


Abbildung 10: Altersgruppenverteilung des Patientenkollektivs graphisch dargestellt.

Alter in Jahren

Kein in die Studie eingeschlossener Patient ist jünger als 18 Jahre. Auf die Altersgruppe 18–25 Jahre entfallen 2,5 % der Patienten, auf die Altersgruppe 26–35 Jahre 19,0 %. Die Altersgruppe 36–45 Jahre beinhaltet 25,6 % aller Patienten, während 33,9 % der Patienten der Altersgruppe 46–60 Jahre zugehörig sind. Über 60 Jahre alt sind 19,0 % der untersuchten Patienten.

### 3.3 HIV-Statusverteilung in Abhängigkeit vom Geschlecht

Von den insgesamt 107 männlichen Patienten waren 59 Patienten HIV-positiv, 22 HIV-negativ und bei 26 Patienten war das Vorliegen einer Infektion nicht bekannt. Von den 14 weiblichen Patientinnen waren 3 HIV-positiv, 7 HIV-negativ und bei 4 Patientinnen war der HIV-Status unbekannt.

	männlich		weiblich	
	Insgesamt		Insgesamt	
	N	%	N	%
HIV-positiv	59	55,1	3	21,4
HIV-negativ	22	20,6	7	50,0
HIV-Status unbekannt	26	24,3	4	28,6
<b>Insgesamt</b>	<b>107</b>	<b>100,0</b>	<b>14</b>	<b>100,0</b>

Tabelle 9: Geschlechtsabhängige HIV-Erkrankungsverteilung absolut und prozentual.

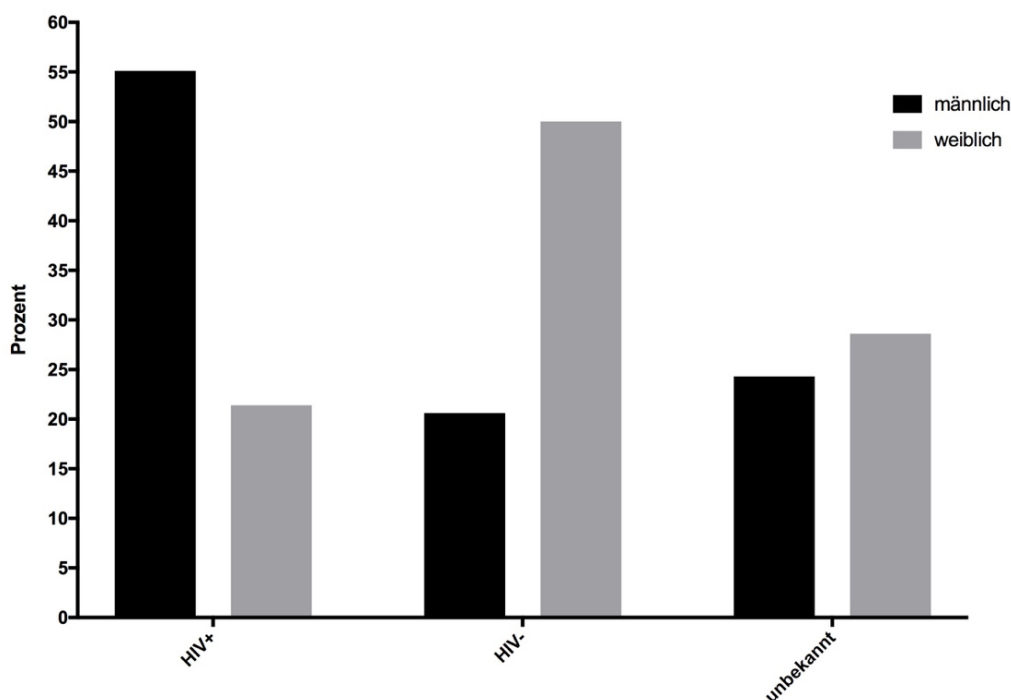


Abbildung 11: Graphische Darstellung des HIV-Status in Abhängigkeit vom Geschlecht.

Unter 107 männlichen Patienten waren 55,1 % HIV-positiv, 20,6 % HIV-negativ und bei 24,3 % war der HIV-Status unbekannt. Von 14 weiblichen Patienten waren dagegen 21,4 % HIV-positiv, 50,0 % HIV-negativ und bei 28,6 % war der HIV-Status unbekannt.

### 3.4 Gewebeproben

Insgesamt wurden im Zeitraum von 2010 bis 2015 an 121 Patienten 210 Gewebeproben entnommen. 59 Patienten (48,8 %) wurde dabei lediglich eine Gewebeprobe entnommen, zwei Gewebeproben wurden bei 39 Patienten (32,2 %) gewonnen. Bei 20 Patienten (16,5 %) wurden drei Proben entnommen. Bei zwei Patienten (1,7 %) wurden vier und bei einem Patienten (0,8 %) wurden fünf Gewebeproben entnommen.

### 3.5 Lokalisationsverteilung

Die Gewebeproben wurden nach Entnahmestelle eingeteilt und nach Art des Geschlechtes sortiert. Bei den männlichen Patienten war der häufigste Lokalisationsort mit 121 gewonnenen Gewebeproben (65,1 %) intraanal. Penis (n = 32/17,2 %), anal (n = 20/10,75 %) und perianal (n = 13/7,0 %) waren als Lokalisationsorte seltener vertreten. Bei den weiblichen Patientinnen wurden neben der Vulva (n = 14/58,3 %) auch intraanal (n = 8/33,3 %), anal (n = 1/4,2 %) und perianal (n = 1/4,2 %) Gewebeproben entnommen.

Ort der Läsion	Männer		Frauen		Insgesamt	
	N	%	N	%	N	%
Intraanal	121	65,0	8	33,3	129	61,4
Anal	20	10,8	1	4,2	21	10,0
Perianal	13	7,0	1	4,2	14	6,7
Vulva	-	-	14	58,3	14	6,7
Penis	32	17,2	-	-	32	15,2
<b>Insgesamt</b>	<b>186</b>	<b>100,0</b>	<b>24</b>	<b>100,0</b>	<b>210</b>	<b>100,0</b>

Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung nach Geschlecht und Lokalisationsort.



### 3.6 Histologisches Grading

	IN I	IN II	IN III	Condyl. ac.	Unauffällig	Insgesamt
N	15	16	83	88	8	210
%	7,2	7,6	39,5	41,9	3,8	100,0

**Tabelle 11: Häufigkeitsverteilung des histologischen Gradings absolut und prozentual.**

Alle gewonnenen Gewebeproben wurden histopathologisch untersucht und gemäß ihrer Entität unterteilt. Die acht Proben (3,8 %), welche in der Histologie unauffällig waren, dienen als Kontrollgruppe. Die 114 Gewebeproben, mit intraepithelialen Neoplasien, bilden die zweite Subgruppe. Davon wiesen n = 15 (7,2 %) einen Grad I, n = 16 (7,6 %) einen Grad II und n = 83 (39,5 %) einen Grad III auf.

Dazu zählten Gewebeproben des Anus, der Vulva und vom Penis. Die letzte Subgruppe wird aus den 88 Proben (41,9 %) gebildet, die als Condylomata acuminata histologisch befundet worden sind.

### 3.7 Verteilung von HPV Typen im Vergleich zur histologischen Befundung

Das Ziel dieses Studiendesigns liegt im Vergleich der Histologie der Gewebeproben mit ihrer anschließenden molekulargenetischen Untersuchung zur Detektion der verschiedenen HPV-Subtypen. Die nachfolgende Tabelle gibt hierzu einen Gesamtüberblick. Eine Unterteilung wurde nach Proben ohne HPV, nur mit High-Risk-HPV, nur mit Low-Risk-HPV und Mischinfektionen vorgenommen. Diese werden in der Tabelle gemäß der histologischen Befundung nach unauffällig, IN I, IN II, IN III und Condylomata acuminata sortiert.

Von insgesamt n = 88 histologisch befundeten Condylomata acuminata war in n = 4 Proben (4,5 %)  $\geq 1$  High-Risk-HPV-Subtyp und in n = 22 Proben (25 %)  $\geq 1$  High-Risk-HPV-Subtyp in Kombination mit einem oder mehreren Low-Risk-HPV-Subtypen nachweisbar. Dies entspricht einem High-Risk-HPV-Auftreten unter allen Condylomata acuminata von 29,5 %. In n = 10 Proben (11,4 %) konnte kein Nachweis für ein vorhandenes HPV-Genom erbracht werden. 59,1 % der Condyl. ac. enthielten nur Low-Risk-HPV-DNA. Die HPV-Prävalenz unter Condyl. ac. lag bei 88,6 %.

In der Gruppe der histologisch eingestufteten Proben mit einer intraepithelialen Neoplasie Grad III (IN III) konnte in n = 56 Proben mindestens ein High-Risk-HPV-Subtyp identifiziert werden und n = 27 Proben waren HPV-negativ oder enthielten mindestens einen Low-Risk-HPV-Subtyp. Dies entspricht einem Auftreten von High-Risk-HPV in IN III befundeten Proben von 67,5 %, in IN II von 18,8 % und in IN I von 1,3 %.

Die HPV-Prävalenz unter Einschluss von Low- und High-Risk-HPV lag unter IN I–III bei 74,6 % (IN I bei 40 %/IN II bei 43,8 %/IN III bei 86,7 %).

Somit sind in 36,7 % aller n = 210 Gewebeproben nur Low-Risk-HPV, in 24,7 % nur High-Risk-HPV, in 16,2 % Mischinfektionen aus High- und Low-Risk-HPV und in 22,4 % keine HPV-Infektionen nachgewiesen worden.

Prozent	High-Risk-HPV	Low-Risk-HPV	High-Risk-+Low-Risk-HPV	HPV-negativ
%	24,7	36,7	16,2	22,4

**Tabelle 12: Häufigkeitsverteilung der HPV-Typen prozentual.**

Subtypen in der Stichprobe	Unauffällig		IN I (N = 15)		IN II (N = 16)		IN III (N = 83)		Condy. ac. (N = 88)		Gesamt	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>No HPV</b>	8	100,0	9	60,0	9	56,3	11	13,3	10	11,4	47	22,4
<b>High-Risk-HPV</b>												
16	-	-	1	6,7	1	6,3	29	34,9	2	2,3	33	15,7
18	-	-	-	-	1	6,3	2	2,4	1	1,1	4	1,9
18 + hr	-	-	-	-	-	-	1	1,2	-	-	1	0,5
16 + 18	-	-	-	-	-	-	3	3,6	-	-	3	1,4
16 + hr	-	-	-	-	-	-	2	2,4	-	-	2	1,0
hr - (16,18)	-	-	-	-	-	-	8	9,6	1	1,1	9	4,3
<b>Low-Risk-HPV</b>												
6	-	-	3	20,0	-	-	7	8,4	30	34,1	40	19,0
6 + lr	-	-	1	6,7	-	-	2	2,4	5	5,7	8	3,8
11	-	-	-	-	-	-	1	1,2	12	13,6	13	6,2
11 + lr	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,1	1	0,5
6 + 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lr - (6, 11)	-	-	1	6,7	4	25,0	6	7,2	4	4,5	15	7,1
<b>HPV hr + lr</b>												
6 + hr	-	-	-	-	-	-	2	2,4	2	2,3	4	1,9
11 + hr oder hr + lr	-	-	-	-	-	-	1	1,2	4	4,5	5	2,4
16 + lr	-	-	-	-	1	6,3	1	1,2	2	2,3	4	1,9
16 + hr + lr	-	-	-	-	-	-	1	1,2	-	-	1	0,5
6 + 18 [+hr+ lr]	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2,3	2	1,0
6 + 16 [+hr +lr]	-	-	-	-	-	-	3	3,6	2	2,3	5	2,4
6 + 11 + hr	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,1	1	0,5
6 + 11 + 16	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,1	1	0,5
11 + 16 [+ hr]	-	-	-	-	-	-	3	3,6	5	5,7	8	3,8
11 + 18 [+ lr]	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3,4	3	1,4

**Tabelle 13: Gegenüberstellung der Subtypenkombination nach CHIP HPV Type 3.5 Hybridisierung und histologisches Grading absolut und prozentual.**

**Aufschlüsselung nachgewiesener HPV-Subtypen (vertikal) und den zugehörigen histologisch befundenen Entitäten IN I, IN II, IN III, Condy. ac. und ohne pathologischen Befund (horizontal).**

Abgelesen werden kann jeweils die absolute Anzahl (N) und die prozentuale Häufigkeit (%) je histologischer Entität am detektierten HPV-Subtyp oder an der Subtypenkombination.

### 3.8 Zusammenhangsanalyse von histologischem Grading und molekulargenetischem HPV-Nachweis in Einzelbetrachtung für intraepitheliale Neoplasien und Condyloma acuminata

In 67,5 % aller mit einer intraepithelialen Neoplasie (IN) Grad III histologisch befundeten Gewebeproben konnte mindestens ein High-Risk-HPV-Subtyp molekulargenetisch nachgewiesen werden. Dies entspricht einem Anteil von 54,2 % an Gewebeproben, die nur High-Risk-HPV enthalten, und 13,2 % an Mischinfektion mit High- und Low-Risk-HPV-DNA. In 32,5 % der histologisch mit IN III befundeten Gewebeproben konnten nur Low-Risk-HPV-Subtypen oder keine HPV-DNA identifiziert werden. Dieser Anteil setzt sich aus 19,3 % nur Low-Risk-HPV-DNA und 13,3 % ohne molekulargenetischen HPV-DNA-Nachweis zusammen.

Prozent %	Anteil in n = 114	IN I + IN II	IN III
High-Risk-HPV	42,2 %	9,7 %	54,2 %
High- + Low-Risk-HPV	25,4 %	3,2 %	13,3 %
Low-Risk-HPV	21,9 %	29,0 %	19,3 %
HPV-negativ	10,5 %	58,1 %	13,2 %

**Tabelle 14: Gegenüberstellung von histologischem Grading und molekulargenetischem HPV-Nachweis.**

Bei den histologisch befundeten IN I und IN II liegt der Anteil von High-Risk-HPV-DNA bei 9,7 %, für Low-Risk-HPV-DNA bei 29,0 % und für Mischinfektionen von High- und Low-Risk-HPV-DNA bei 3,2 %.

Für keinen HPV-DNA-Nachweis liegt der Anteil bei 58,1 %. Somit ist in 12,9 % der histologisch befundeten Gewebeproben IN I und IN II mindestens ein High-Risk-HPV-Subtyp diagnostiziert worden. In 87,1 % wurden nur Low-Risk-HPV-Subtypen oder kein HPV-DNA-Nachweis gefunden.

Insgesamt sind unter allen IN in 42,2 % der Fälle nur High-Risk-HPV-Subtypen identifiziert worden. Nur Low-Risk-HPV-Subtypen lagen unter allen als histologisch befundeten IN in 21,9 % der Fälle vor. Mischinfektionen mit High-Risk- und Low-

Risk-HPV-DNA lagen insgesamt bei 10,5 % und kein HPV-DNA-Nachweis erfolgte bei 25,4 % aller n = 114 IN.

Bei Betrachtung aller histologischen Entitäten und der darin detektierten Low-Risk- und High-Risk-HPV ergeben sich folgende absolute Verteilungen.

In 27 Proben der Entitäten IN I, IN II konnte nur Low-Risk-HPV nachgewiesen werden; ebenso viele positive Proben waren es in der Entitätsklasse IN III. In der Gruppe der Condyl. ac. konnte in 62 Proben nur Low-Risk-HPV detektiert werden. In acht Proben, die histologisch als unauffällig eingestuft wurden, konnte kein HPV nachgewiesen werden.

Unter Einbezug aller Proben, die positiv auf High-Risk-HPV getestet wurden, verteilen sich vier Proben auf die Entitäten IN I und IN II und 56 Proben auf den Entitätsgrad IN III. Unter den Condyl. ac. waren es 26 positiv auf High-Risk-HPV getestete Proben.

Der Zusammenhang zwischen Auftreten von High-Risk-/ Low-Risk-HPV-Subtypen mit der Histologie ist signifikant ( $P < ,001$ ). Bei IN III ist das prozentuale Vorkommen an High-Risk-HPV-Subtypen signifikant am höchsten. Für Condylomata acuminata, einen unauffälligen Befund und für IN I/IN II können keine Abweichungen bezüglich der Detektion von Low-Risk-HPV-Subtypen detektiert werden. Mit  $V = ,46$  (Cramer's V) ist der Effekt von mittlerer Stärke.

	Un-auffällig		Low-Risk (IN I, IN II)		High-Risk (IN III)		Condyl. ac.		Gesamt	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Low-Risk	8 <sup>a</sup>	0	27 <sup>a</sup>	87,1	27 <sup>b</sup>	32,5	62 <sup>a</sup>	70,5	124	59,0
High-Risk	0 <sup>a</sup>	0	4 <sup>a</sup>	12,9	56 <sup>b</sup>	67,5	26 <sup>a</sup>	29,5	86	41,0

**Tabelle 15: Gegenüberstellung molekulargenetische Analyse und histologisches Grading.**

**Darstellung der histologisch befundeten Entitäten nach Invasivitätsgrad (horizontal) und den detektierten HPV-Subtypen nach Risiko (vertikal) absolut und prozentual. Zur High-Risk-Gruppe zählen alle Proben mit mindestens einem nachgewiesenen High-Risk-HPV-Subtypen. Die Low-Risk-HPV-Gruppe enthält nur Proben mit Low-Risk-HPV oder keine HPV-Subtypen. Die hochgestellten Buchstaben sind zeilenweise zu lesen.**

Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben verweisen auf einen signifikanten Unterschied. (a:  $p < .05$ , b:  $p < .01$  Korrektur des Signifikanzniveaus nach Bonferroni).

### 3.9 Häufigkeitsverteilung von HPV-Subtypen bei Feigwarzen

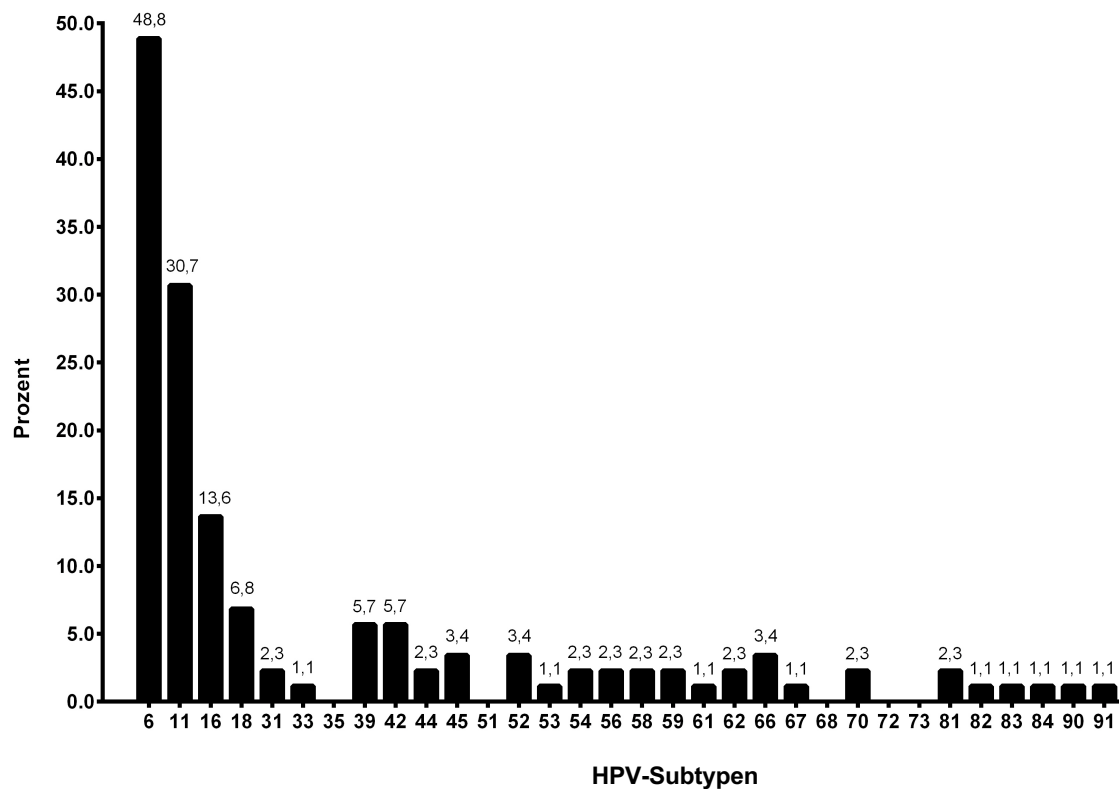
Der Nachweis von High-Risk-HPV-DNA in als Condylomata acuminata histologisch gesicherten Gewebeproben liegt bei 4,5 %. In 11,4 % der Fälle war keine HPV-DNA nachweisbar. Low-Risk-HPV-DNA konnte in 59,1 % und eine Mischinfektion aus Low-Risk-HPV- und High-Risk-HPV-DNA in 25,0 % der Fälle diagnostiziert werden. Somit konnten wie in Tabelle 16 veranschaulicht insgesamt bei histologisch gestellter Diagnose Condyloma acuminata (Condyl. ac.) in 29,5 % der Gewebeproben mindestens ein High-Risk-HPV-Subtyp und in 70,5 % nur Low-Risk-HPV-Subtypen oder keine HPV-Subtypen nachgewiesen werden.

	High-Risk-HPV	High- + Low-Risk-HPV	Low-Risk-HPV	HPV-negativ
%	4,5	25,0	59,1	11,4
	29,5		70,5	

**Tabelle 16: Häufigkeitsverteilung nach HPV-Risikostufen bei histologisch gesicherten Condylomata acuminata.**

Bei der Auswertung von molekulargenetisch nachgewiesenen HPV-Subtypen unter allen Gewebeproben, die histologisch als Condylomata acuminata befundet wurden, waren der Low-Risk-HPV-Subtyp 6 mit 48,8 % und der Low-Risk-HPV-Subtyp 11 mit 30,7 % am häufigsten vertreten. Eine graphische Darstellung des Verteilungsmusters liefert Abbildung 12.

Aus der Gruppe der High-Risk-HPV-Subtypen sind mit 13,6 % der Subtyp 16 und mit 6,8 % der Subtyp 18 nachgewiesen worden. Alle weiteren nachgewiesenen Subtypen lagen unter 6,0 %. Kein DNA-Nachweis erfolgte für die Subtypen 35, 51, 68, 72 und 73. Aus der Gruppe der High-Risk-HPV-Subtypen waren bei Feigwarzen mit 2,3 % HPV 31, mit 1,1 % HPV 33, mit 5,7 % HPV 39, mit 3,4 % HPV 45, mit 3,4 % HPV 52, mit 2,3 % HPV 56, mit 2,3 % HPV 58 und mit 2,3 % HPV 59 nachweisbar.



**Abbildung 12: Graphische Darstellung der Häufigkeitsverteilung von jedem einzelnen HPV-Subtypen bei Condyl. ac. (n = 88) in %.**

### 3.9.1 Zusammenhang von Condyl. ac. und Low-Risk-HPV-Subtypen 6, 11

Bei Feigwarzen sind die Subtypen HPV 6 oder HPV 11 mit 47,7 % gegenüber der anderen zwei Gruppen stark gehäuft vertreten. ( $\chi^2(3) = 40,97$ ,  $P < ,001$ ). Dieser Effekt ist moderat bis stark ( $V = ,44$ ).

Für das kombinierte Auftreten von HPV 6 und HPV 11 erfolgte kein Nachweis.

Der Typus HPV 6 und HPV 11 tritt bei Condylomata acuminata in Kombination mit einem oder mehreren Low-Risk-HPV-Subtypen in 54,5 % der Fälle auf.

Werden auch noch alle Gewebeproben mit High-Risk-HPV-Subtypen hinzugezählt, liegen bei n = 88 Feigwarzen in 77,3 % der Fälle Gewebeproben mit positivem

Nachweis von HPV 6 oder HPV 11 vor. Darin sind zwei Proben enthalten, in denen sowohl HPV 6 als auch HPV 11 und ein High-Risk-HPV-Subtyp nachgewiesen wurden.

	Unauffällig		Low-Risk (IN I, IN II)		High-Risk (IN III)		Condyl. ac.		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
HPV 6, 11	0 <sup>a, b</sup>	0	3 <sup>b</sup>	9,7	8 <sup>b</sup>	9,6	42 <sup>a</sup>	47,7	53	25,2

**Tabelle 17: Häufigkeitsverteilung von HPV 6 und 11 in den einzelnen Entitäten.**

**Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeit von Low-Risk-HPV 6 und 11 in den separat betrachteten histologischen Entitäten Condyl. ac., IN I, IN II und IN III. Unter allen IN I und IN II (n = 31) wurde in 9,7 % HPV 6 oder HPV 11 nachgewiesen. In 9,6 % wurde HPV 6 oder 11 bei IN III (n = 83) detektiert. Bei der Entität Condyl. ac. (n = 88) lag in 47,7 % HPV 6 oder 11 vor.**

**Die hochgestellten Buchstaben sind zeilenweise zu lesen. Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben verweisen auf einen signifikanten Unterschied (a:  $p < .05$ , b:  $p < .01$ . Korrektur des Signifikanzniveaus nach Bonferroni).**

### **3.9.2 Zusammenhang von Alter und HPV-Genom**

Das durchschnittliche Alter aller Probanden der Proben mit Low-Risk-HPV ist mit 42,9 Jahren (SD = 12,5) geringfügig jünger als der Probanden der Proben mit High-Risk-HPV (46,7 Jahren) (SD = 14,9) liegt.

Bei der Verteilung des Alters muss in beiden Gruppen eine Abweichung der Normalverteilung angenommen werden. (Kolmogorov-Smirnov-Test:  $P < ,01$ ).

Folglich wurde für den Altersvergleich der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test gewählt. Es konnten dabei keine signifikanten Unterschiede detektiert werden ( $z = 1,49$ ,  $P = ,136$ ).

### **3.9.3 Gegenüberstellung und Analyse des Zusammenhangs von HIV-Status, molekulargenetischen Ergebnissen und histologischer Befundung**



Von 88 histologisch nachgewiesenen Feigwarzen entfielen 26 (29,5 %) auf HIV-negative Gewebeproben. Unter den histologisch befundeten Condylomata acuminata (Condy. ac.) lag bei n = 4 (15,4 %) High-Risk-HPV-DNA und bei n = 22 (84,6 %) Low-Risk-HPV-DNA vor. 14 Gewebeproben (82,4 %), die histologisch mit einer IN III befundet wurden, enthielten mindestens einen High-Risk-HPV-Subtypen und n = 3 (17,6 %) Low-Risk-HPV-DNA. Bei zwei Gewebebiopsien mit histologischem Grading IN I und IN II konnte nur Low-Risk-HPV-DNA detektiert werden. Zwei histologisch unauffällige Biopsien enthielten ebenfalls Low-Risk-HPV-DNA.

In der Gruppe der HIV-positiven Biopsien enthielten n = 26 Gewebeproben (59,1 %), die histologisch mit einer IN III befundet wurden, mindestens einen High-Risk-HPV-Subtypen. In n = 18 (40,9 %) enthielten sie Low-Risk-HPV-DNA. Unter den Condy. ac. lag bei n = 19 (47,5 %) High-Risk-HPV-DNA und bei n = 21 (52,5 %) Low-Risk-HPV-DNA vor. Bei histologischer Befundung von IN I und IN II wurde unter HIV-positiven Gewebeproben High-Risk-HPV-DNA bei n = 4 (17,4 %) und Low-Risk-HPV-DNA bei n = 19 (82,6 %) nachgewiesen. In sechs histologisch unauffälligen Biopsien wurde nur Low-Risk-HPV-DNA detektiert.

In der Gruppe der Patienten mit unbekanntem HIV-Status wurde bei IN-I- und IN-II-Gewebeproben in n = 6 (100,0 %) Low-Risk-HPV-DNA und keine High-Risk-HPV-DNA detektiert. Bei IN III lag der High-Risk-HPV-DNA-Nachweis bei n = 16 (72,7 %) und bei Low-Risk-HPV-DNA bei n = 6 (27,3 %). Unter den Condy. ac. wurde High-Risk-HPV-DNA bei n = 3 (13,6 %) und Low-Risk-HPV-DNA bei n = 19 (86,4 %) nachgewiesen.

In allen drei HIV-Gruppen besteht für das Auftreten der HPV-Subtypen und der Histologie eine signifikante Kausalität ( $p < ,010$ ). Bei Patienten mit negativem oder unbekanntem HIV-Status ist der Prozentsatz an High-Risk-HPV-Subtypen bei einem Befund IN III statistisch signifikant höher als bei Gewebeproben mit dem Befund Condylomata acuminata. Dies gilt für Patienten mit einem positiven HIV-Status nicht mehr. Für diese Patientengruppe ist der Prozentsatz an High-Risk-HPV-Subtypen in der Gruppe Condy. ac. mit 47,5 % etwa gleich hoch wie in der Gruppe IN III mit 59,1 %.

Condy. ac. lagen in 29,5 % der HIV-negativen und in 45,5 % der HIV-positiven Gewebebiopsien vor. IN lagen in 16,7 % der HIV-negativen und in 58,8 % der HIV-positiven Gewebeproben vor.

Die HPV-Prävalenz unter HIV-negativen Gewebebiopsien belief sich insgesamt auf 87,2 % (92,3 % Condy. ac./94,1 % IN III/50 % IN I, II) und bei HIV-positiven Gewebeproben auf 74,3 % (87,5 % Condy. ac./86,4 % IN III/47,8 % IN I, II).

	Unauffällig		Low-Risk (IN I, IN II)		High-Risk (IN III)		Condy. ac.		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>HIV-negativ (exakter Test nach Fisher: P &lt; ,001)</b>										
Low-Risk	2 <sup>a,b</sup>	100,0	2 <sup>a,b</sup>	100,0	3 <sup>b</sup>	17,6	22 <sup>a</sup>	84,6	29	61,7
High-Risk	0 <sup>a,b</sup>	0	0 <sup>a,b</sup>	0	14 <sup>b</sup>	82,4	4 <sup>a</sup>	15,4	18	38,3
<b>HIV-positiv (exakter Test nach Fisher: P &lt; ,001)</b>										
Low-Risk	6 <sup>a</sup>	100,0	19 <sup>a</sup>	82,6	18 <sup>b</sup>	40,9	21 <sup>a,b</sup>	52,5	64	56,6
High-Risk	0 <sup>a</sup>	0	4 <sup>a</sup>	17,4	26 <sup>b</sup>	59,1	19 <sup>a,b</sup>	47,5	49	43,4
<b>HIV-Status unbekannt (exakter Test nach Fisher: P &lt; ,001)</b>										
Low-Risk	-	-	6 <sup>a</sup>	100,0	6 <sup>b</sup>	27,3	19 <sup>a</sup>	86,4	31	62,0
High-Risk	-	-	0 <sup>a</sup>	0	16 <sup>b</sup>	72,7	3 <sup>a</sup>	13,6	19	38,0

**Tabelle 18: Gegenüberstellung von HPV-Risikostufe, HIV-Status und histologischem Grading.**

**Verteilung von HPV- Typen auf den HIV-Status in Abhängigkeit vom histologischen Grading prozentual und absolut; Zur High-Risk-Gruppe zählen alle Proben mit mindestens einem nachgewiesenen High-Risk-HPV-Subtypen. Die Low-Risk-Gruppe enthält nur Proben mit Low-Risk-HPV oder keine HPV-Subtypen.**

**Die hochgestellten Buchstaben sind zeilenweise zu lesen. Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben verweisen auf einen signifikanten Unterschied (a:  $p < .05$ , b:  $p < .01$ . Korrektur des Signifikanzniveaus nach Bonferroni).**

### 3.10 Verteilung nach der Häufigkeitsverteilung der HPV-Subtypen in intraepithelialen Neoplasien IN I–III

Alle histologisch als intraepitheliale Neoplasie Grad I bis III befundeten Gewebeproben wurden mittels molekulargenetischen Verfahren nach HPV-Subtypen untersucht, wobei ihre Häufigkeitsverteilung nach Invasivitätsgrad I bis III quantitativ ausgewertet wurde. Bei den IN I waren der Low-Risk-HPV-Subtyp 6 mit 26,7 %, HPV 61 mit 6,7 %, der High-Risk-HPV-Subtyp 16 mit 6,7 % und HPV 53 mit 6,7 % vertreten.

Unter Ausschluss der Gewebeproben von IN I ohne molekulargenetischen Nachweis von HPV-DNA lag die Häufigkeit für HPV 6 bei 66,67 %, für HPV 16 bei 16,67 %, für HPV 53 bei 16,67 % und für HPV 61 bei ebenfalls 16,67 %.

HPV-Typen	Ermittelte Häufigkeitsverteilung der Subtypen in der histologischen Entität IN III in %	
	Häufigkeitsverteilung unter Einschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben	Häufigkeitsverteilung unter Ausschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben
HPV 6	26,7	66,7
HPV 16	6,7	16,7
HPV 53	6,7	16,7
HPV 61	6,7	16,7

**Tabelle 19: Häufigkeitsverteilung der High-Risk- und Low-Risk-HPV-Subtypen in IN I.**

Bei IN II waren der High-Risk-HPV-Subtyp 16 mit 12,5 %, HPV 18 mit 6,2 % und die Low-Risk-HPV-Subtypen 42 mit 6,2 %, HPV 44 mit 6,2 %, HPV 72 mit 12,5 % und HPV 83 mit 12,5 % vertreten. Unter Ausschluss der Gewebeproben von IN II ohne molekulargenetischen Nachweis von HPV-DNA lag die Häufigkeit für HPV 16 bei

28,6 %, für HPV 18 bei 14,3 %, für HPV 42 bei 14,3 %, für HPV 44 bei 14,3 %, für HPV 72 bei 28,6 % und für HPV 83 bei 28,6 %.

HPV-Typen	Ermittelte Häufigkeitsverteilung der Subtypen in der histologischen Entität IN III in %	
	Häufigkeitsverteilung unter Einschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben	Häufigkeitsverteilung unter Ausschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben
HPV 16	12,5	28,6
HPV 18	6,2	14,3
HPV 42	6,2	14,3
HPV 44	6,2	14,3
HPV 72	12,5	28,6
HPV 83	12,5	28,6

**Tabelle 20: Häufigkeitsverteilung der High-Risk- und Low-Risk-HPV-Subtypen in IN II.**

Bei IN III waren die High-Risk-HPV-Subtypen 16 mit 50,6 %/58,3 % (unter Ausschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben), HPV 18 mit 7,2 %/8,3 %, HPV 33 mit 6,0 %/7,0 %, HPV 39 mit 3,6 %/4,2 %, HPV 45 mit 3,6 %/4,2 %, HPV 52 mit 1,2 %/1,4 %, HPV 58 mit 2,4 %/2,8 % und HPV 68 mit 2,4 %/2,8 % vertreten. Die Häufigkeitsverteilung der Low-Risk-HPV-Subtypen war bei HPV 6 15,7 %/18,1 %, bei HPV 11 6,0 %/7,0 %, bei HPV 42 6,0 %/7,0 %, bei HPV 44 1,2 %/1,4 %, bei HPV 61 2,4 %/2,8 % und bei HPV 84 1,2 %/1,4 %. Für HPV 53 lag die Häufigkeitsverteilung bei 2,4 %/2,8 %, für HPV 66 bei 1,2 %/1,4 %, für HPV 67 bei 1,2 %/1,4 % und für HPV 70 bei 1,2 %/1,4 %.

HPV-Typen	Ermittelte Häufigkeitsverteilung der Subtypen in der histologischen Entität IN III in %	
	Häufigkeitsverteilung unter Einschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben	Häufigkeitsverteilung unter Ausschluss HPV-negativ getesteter Gewebeproben
HPV 6	15,7	18,1
HPV 11	6,0	7,0
HPV 16	50,6	58,3

HPV 18	7,2	8,3
HPV 33	6,0	7,0
HPV 39	3,6	4,2
HPV 42	6,0	7,0
HPV 44	1,2	1,4
HPV 45	3,6	4,2
HPV 52	1,2	1,4
HPV 53	2,4	2,8
HPV 58	2,4	2,8
HPV 61	2,4	2,8
HPV 66	1,2	1,4
HPV 67	1,2	1,4
HPV 68	2,4	2,8
HPV 70	1,2	1,4
HPV 84	1,2	1,4

**Tabelle 21: Häufigkeitsverteilung der High-Risk- und Low-Risk-HPV-Subtypen in IN III.**

### **3.10.1 Korrelation von steigendem Invasivitätsgrad und molekulargenetischer Untersuchungen an HPV 16 und HPV 18**

Um den Zusammenhang von zunehmendem Invasivitätsgrad (IN I nach IN III) mit der Zusammensetzung von molekulargenetisch nachgewiesener HPV-DNA zu untersuchen, sind die Subtypen 16 und 18 in jeweils eine Gruppe unterteilt worden und wurden statistisch analysiert.

Zur Gruppe HPV 16+ zählen alle Gewebeproben mit histologisch nachgewiesener intraepithelialer Neoplasie von Grad I bis III, die positiv auf HPV-DNA vom Subtypen 16 untersucht wurden. Dies traf für n = 1 (6,7 %) unter allen IN I zu, für n = 2 (12,5 %) unter allen IN II und für n = 39 (47,0 %) unter allen IN III. In der Gruppe HPV 16+ besteht eine signifikante Kausalität zwischen dem Auftreten von HPV 16 (kein HPV 18) und der Progression des Invasivitätsgrades von IN I bis IN III ( $\chi^2(2) = 13,62$ , P = ,001). Dieser Effekt ist moderat (V = ,35). Bei IN III ist gegenüber der anderen zwei Klassen, die prozentuale Häufigkeit von HPV 16+ signifikant höher.

Zur Gruppe HPV 18+ zählen alle intraepithelialen Neoplasien von Grad I bis III, die positiv auf HPV-DNA vom Subtypen 18 getestet wurden. Dies traf unter IN I für keine Gewebeprobe zu, für  $n = 1$  (6,2 %) unter allen IN II und für  $n = 3$  (3,6 %) unter allen IN III. In HPV 18+ konnte keine Verbindung zwischen dem Auftreten von HPV 18 (ohne HPV 16) und den intraepithelialen Neoplasiestadien nachgewiesen werden (exakter Test nach Fisher:  $P = ,725$ ,  $V = ,09$ ).

	IN I		IN II		IN III		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
HPV 16+	1 <sup>a</sup>	6,7	2 <sup>a</sup>	12,5	39 <sup>b</sup>	47,0	42	36,8
HPV 18+	0	0	1	6,2	3	3,6	4	3,5

**Tabelle 22: Grad der Invasivitäts und molekulargenetische Untersuchung von HPV 16 und HPV 18.**

**Getrennte Häufigkeitsdarstellung von positiven HPV-16- oder positiven HPV-18-Proben in den einzelnen histologischen Invasivitätsstufen der intraepithelialen Neoplasien absolut und prozentual.**

**Die hochgestellten Buchstaben sind zeilenweise zu lesen. Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben verweisen auf einen signifikanten Unterschied (a:  $p < .05$ , b:  $p < .01$ . Korrektur des Signifikanzniveaus nach Bonferroni).**

Bei Einbezug von Mischinfektionen liegen unter allen IN III  $n = 3$  Proben mit einer Kombination von HPV-DNA 16 und 18 vor. Somit ergibt sich unter allen IN III eine Häufigkeit von 50,6 % für HPV 16 und 7,2 % für HPV 18. Alle weiteren untersuchten High-Risk-HPV-DNA-Subtypen 33, 39, 45, 52, 58 und 68 waren negativ für die untersuchten Gewebeproben mit histologisch nachgewiesener intraepithelialer Neoplasie Grad I und II.

Unter allen untersuchten IN III lag die Häufigkeit für HPV 33 bei 6,0 %, für HPV 39 bei 2,4 %, für HPV 45 bei 3,6 %, für HPV 52 bei 1,2 %, für HPV 58 bei 2,4 % und für HPV 68 bei 2,4 %.

	IN I	IN II	IN III
HPV 16	6,7	12,5	50,6
HPV 18	0	6,2	7,2
HPV 33	0	0	6,0
HPV 39	0	0	2,4
HPV 45	0	0	3,6

HPV 52	0		0		1,2
HPV 58	0		0		2,4
HPV 68	0		0		2,4

**Tabelle 23: Graphische Darstellung der Progression einzelner High-Risk-HPV unter Einbezug von Mischinfektionen.**

## 4 Diskussion

Neben dem Zervixkarzinom bei Frauen, das mit nahezu 100 % von High-Risk-HPV – vor allem HPV 16 – ausgelöst wird, werden immer mehr Karzinome in einen Zusammenhang mit High-Risk-HPV-Infektionen gebracht. So zählen bei Männern im Genitalbereich das Penis- und Analkarzinom und in der Mundhöhle und im Rachenraum das Plattenepithelkarzinom als HPV-vermittelte Krebstypen. (Jemal, Siegel, Xu, & Ward, 2010; Walboomers et al., 1999)

Bereits in Vorläuferläsionen, zu denen die genitoanal intraepithelialen Dys-/Neoplasien gehören, liegen onkogene HPV-Typen vor. Eine HIV-Infektion birgt ein erhöhtes Risiko für die maligne Transformation von genitoanal intraepithelialen Neoplasien. So ist eine erhöhte Inzidenz des Analkarzinoms bei HIV-Patienten trotz antiretroviraler Therapie (ART) zu verzeichnen. Eine frühzeitige Entdeckung und anschließende Behandlung dieser Entartungen im Rahmen von Screening-Programmen sollten daher von höchster Bedeutung sein. (Mads Melbye, Coté, Biggar, Kessler, & Gail, 1994)

Leider konnten sich internationale Fachgesellschaften aufgrund mangelnder Evidenz bisher nicht für gemeinsame Empfehlungen aussprechen. (Mosthaf, Hanhoff, Goetzenich, Wolf, & Knechten, 2006) Diesem Bedürfnis kam erstmalig die Deutsche AIDS Gesellschaft (DAIG) mit der Veröffentlichung einer Leitlinie zum präventiven, diagnostischen und therapeutischen Umgang von Dysplasien und Karzinomen des Anus bei HIV-positiven Patienten im Jahr 2013 nach. Empfohlen wird darin eine jährliche Routinekontrolle von HIV-Infizierten mit zytologischem Abstrich, Inspektion und Palpation. Nur bei auffälliger Zytologie und high-resolution Anoskopie (HRA) wird

die Gewebebiopsie empfohlen, nicht aber eine molekulargenetische HPV-Subtypisierung. (Esser, 2013; Singh, Kuohung, & Palefsky, 2009)

Mit dieser Studie sollte eine Überprüfung der Leitlinie durch molekulargenetische HPV-Subtypisierung und histologische Analyse von Gewebebiopsien erfolgen, um mögliche neue Screening-Parameter bzw. prädiktive Faktoren zu identifizieren, die für das Transformationsrisiko potenziell relevant sind. Dabei lag das Augenmerk besonders auf HIV/HPV-koinfizierten Patienten. Hierbei könnte das Vorliegen bestimmter HPV-Subtypen für die Risikoanalyse der malignen Entartung von Bedeutung sein.

Für diese Studie wurden im Zeitraum von 2010 bis 2015 in der Immunambulanz der Dermatologischen Klinik München retrospektiv und anonymisiert Patientendaten erfasst und die zugehörigen Gewebeproben von HIV-positiven und HIV-negativen Patienten histologisch und molekulargenetisch untersucht.

Insgesamt wurden bei 121 weiblichen (11,6 %) und männlichen (88,4 %) Patienten 210 Gewebeproben gewonnen, die auf Grund ihrer Erkrankungen mit dem HI-Virus oder der Erstmanifestation, Zweitmanifestation oder der routinemäßigen Verlaufskontrolle von anogenitalen Feigwarzen oder anogenitalen Neoplasien in der Immunambulanz München behandelt wurden.

Die am stärksten vertretene Altersgruppe waren Patienten von 46 bis 60 Jahren und somit lag der Altersdurchschnitt bei (Jahre  $\pm$  SD)  $47,79 \pm 14,28$  Jahren. Bei 51,2 % der untersuchten Patienten war der HIV-Status positiv, 24,0 % waren nicht mit HIV infiziert und bei 24,8 % lagen keine Kenntnisse über den HIV-Status vor.

Die 210 Gewebeproben, entnommen von anal, dem Penis und der Vulva, wurden molekulargenetisch auf 32 unterschiedliche humane Papillomaviren untersucht, um daraufhin ihre Häufigkeitsverteilung hinsichtlich der histologischen Entitäten statistisch auszuwerten.

Im Journal of European Academy of Dermatology and Venereology, Ausgabe 34, Nr. 2: S. 377–384 wurden die Daten der Dissertation unter dem Titel „Retrospective analysis of alpha-human papillomavirus (HPV) types in tissue samples from anogenital dysplasias – introduction of the RICH (Risk of HPV-related Carcinoma in HIV+/- patients) score“ am 13.02.2020 publiziert.



#### 4.1 Geschlechts- und Altersverteilung des Patientenkollektivs

Das untersuchte Patientenkollektiv ist mit mehr als Dreiviertel der Patienten (88,4 %) durch Männer repräsentiert. Die vorhandene Literatur und bereits durchgeführte Studien wiederum belegen, dass Frauen und Männer in etwa gleich häufig von HPV-assoziierten Neoplasien betroffen sind. (Baken et al., 1995; Viens, 2016) Somit könnte eine mögliche Erklärung für den extremen Unterschied bezüglich der Verteilung der Geschlechter in der Arztwahl und der Vorsorgedisziplin der Frauen liegen. Diese suchen regelmäßiger über alle Altersschichten hinweg einen Gynäkologen auf, der für die Frühbehandlung verantwortlich ist und somit einen verringerten weiblichen Behandlungsbedarf in der Immunambulanz zur Folge haben könnte.

Bei der Altersverteilung des Patientenkollektivs liegt der Mittelwert bei 47,79 Jahren. Keiner der Studienteilnehmer war unter 18 Jahren alt. Die am stärksten vertretene Altersgruppe, der Gewebeproben mit anogenitalen Neoplasien entnommen wurden, lag zwischen 36 und 60 Jahren. In dieser war über die Hälfte aller untersuchten Patienten repräsentiert. Doch auch in allen anderen Altersgruppen, außer unter 25 Jahren, waren HPV-assoziierte Neoplasien im Patientenkollektiv vertreten. Dieses Ergebnis stimmt damit mit den Daten vergleichbarer Übersichtsarbeiten überein. (Franceschi et al., 2006; Nyitray et al., 2011)

Die Altersgruppe unter 25 Jahren ist nur vereinzelt betroffen, da es sich bei HPV-Infektionen am häufigsten um eine sexuell übertragbare Erkrankung handelt und somit ein sexuell aktives Alter Voraussetzung ist. Hinzu kommt, dass die Zeit von der HPV-assoziierten Infektion bis zur hochgradigen intraepithelialen Neoplasie oder dem Karzinom zwischen einem und zehn Jahren variiert. (Moscicki, Schiffman, Kjaer, & Villa, 2006; Wieland & Kreuter, 2015) Hierdurch könnte sich auch das Auftreten von älteren Patientengruppen erklären lassen.

## 4.2 Zusammenhang von HPV- und HIV-Infektionen

In der Beurteilung der HPV-Prävalenzen stellt der HIV-Status einen erheblichen Faktor dar. Immunsupprimierende Erkrankungen wie HIV begünstigen die Infektion mit HPV und sind demnach einer größeren Wahrscheinlichkeit für IN oder der Entstehung von Karzinomen ausgesetzt. (Morten Frisch et al., 2000; Goedert et al., 1998)

Entsprechend dieser Annahme konnten in der vorliegenden Studie bei HIV-negativen Probanden in nur 15,4 % der Feigwarzen-Biopsien High-Risk-HPV-Typen nachgewiesen werden, während sich bei HIV-positiven Probanden in 47,5 % der Proben High-Risk-HPV-Typen detektieren ließen. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich die Vermutung aufstellen, dass HIV die maligne Transformation von Feigwarzen begünstigt.

Überraschenderweise konnte diese Korrelation in der vorliegenden Studie bei der Betrachtung der Verteilung der High-Risk-Typen in den Biopsien der IN III nicht bestätigt werden. Hier lagen zwar die Werte von High-Risk-HPV sowohl bei HIV-Infizierten und nicht erkrankten Probanden sichtlich über den Werten der Low-Risk-Typen, allerdings waren prozentual bei den HIV-negativen mehr High-Risk-Typen zu verzeichnen.

Dass dieses Ergebnis den berichteten Erkenntnissen aus der Literatur widerspricht, kann darin begründet liegen, dass Informationen zur Erkrankungsdauer fehlten, 23,8 % der Proben ohne HIV-Status in die Betrachtung miteinfließen und die Stichproben von unterschiedlichen Lokalisationen stammten.

Zudem setzte sich die hier vorliegende Studie aus zum Teil mehreren Gewebebiopsien von denselben Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten zusammen. Ein negativer HPV-DNA-Nachweis bei Patienten mit bereits gestarteter Therapie ist hierbei wahrscheinlicher.

Darüber hinaus wurden in zahlreichen Vergleichsstudien zusätzlich Daten zur CD4-Zellanzahl erhoben. Diese Daten sollten in nachfolgenden Studien zwingend zur differenzierteren Betrachtung von HPV-Prävalenzen bei HIV-Infizierten miterhoben werden, um den Zusammenhang von einer steigenden HPV-Prävalenz mit der abnehmenden Anzahl von CD4-Zellen bestätigen zu können. (Breese, Judson, Penley, & Douglas, 1995) Der HIV-Status allein ist somit für einen differenzierten

Vergleich unterschiedlicher Studienergebnisse nicht ausreichend. Auch vollständig unabhängige Gewebebiopsien sind für Vergleiche mit anderen Studien anzustreben. Ein erhöhtes Auftreten von Feigwarzen bei HIV-Patienten im Gegensatz zu HIV-negativen Probanden konnte dadurch bestätigt werden, dass nach den Ergebnissen dieser Studie 29,5 % der Feigwarzen HIV-negativen Gewebebiopsien und 45,5 % HIV-positiven Proben zugeordnet werden konnten.

In einer vergleichbaren Kreuzanalyse zur Prävalenz von analen HPV-Infektionen kam die Studiengruppe zu dem Ergebnis, dass HIV-infizierte Männer vermehrt HPV aufweisen. Hierbei wurden 287 HIV-negative und 322 HIV-positive Männer in einer Longitudinalstudie untersucht. Anale HPV-DNA wurde in 91,6 % unter HIV-positiven und in 65,9 % unter HIV-negativen Männern mittels PCR nachgewiesen. (Critchlow et al., 1998) In einer weiteren Kreuzanalyse von 93 HIV-positiven und 116 HIV-negativen homosexuellen/bisexuellen Männern wurde HPV-DNA in 57 HIV-positiven (61 %) und 20 HIV-negativen (17 %) analen Proben nachgewiesen. Dabei wurden bei 35 % der HIV-negativen Männer und bei 52 % der Männer mit AIDS/ARC anale Feigwarzen diagnostiziert. (Breese et al., 1995)

Ein Vergleich der hier gewonnenen Ergebnisse mit diesen Studiendaten ist zudem nur eingeschränkt möglich, da diese nur männliche Probanden einbezogen haben und sich die Ergebnisse folglich auf anale Gewebeproben beschränken. Im Gegensatz dazu wurden die Gewebeproben der vorliegenden Studie bei Frauen und Männern gewonnen, um die gesamten anogenitalen Regionen bewerten zu können.

Unter insgesamt 114 histologisch nachgewiesenen intraepithelialen Neoplasien (Grad I–III) aus unterschiedlichsten Lokalisationen (Penis, anal, vulvär) lag die HPV-Prävalenz bei 89,5 % (n = 17) für HIV-negative Gewebeproben, bei 73,1 % (n = 49) für HIV-positive Gewebeproben und bei 67,9 % (n = 19) für Proben mit unbekanntem HIV-Status. Auch hier kann – wie in anderen Studien belegt – keine erhöhte HPV-Prävalenz (89,5 % zu 73,1 %) unter immunsupprimierten Patienten beobachtet werden. (Beachler, D'Souza, Sugar, Xiao, & Gillison, 2013; Dietrich et al., 2015; Palefsky et al., 2001; Silverberg et al., 2012) Da weitere Faktoren, wie die Anzahl der Geschlechtskontakte und ob eine drogenassoziierte HIV-Infektion besteht, einen

Einfluss auf die HPV-Prävalenz haben (Piketty et al., 2003), müssen mehr HIV-relevante Daten erhoben werden, um eine Vergleichbarkeit der Studiendaten zu ermöglichen.

Während unter HIV-negativen Gewebeproben mit einem IN Grad I und II nur eine Probe (50,0 %) HPV-DNA enthielt, wurde unter HIV-positiven Gewebeproben in elf Proben (47,8 %) HPV-DNA nachgewiesen. Auch bei einem IN Grad III lag für HIV-negative Proben die HPV-Prävalenz bei 94,1 % und für HIV-positive bei 86,4 %. Zu beachten ist bei der Beurteilung und Interpretation der erzielten Ergebnisse, dass es sich um histologisch nachgewiesene intraepitheliale Neoplasien unterschiedlichster Lokalisationen handelt. Etwaige Unterschiede der HPV-Prävalenzen in Bezug auf den Entnahmeort der Gewebeproben zu identifizieren, war nicht Teil dieser Studie und sollte folglich in anschließenden Studien erfolgen. Bei Männern mit HIV-Infektion ist die Entstehung von AIN um den Faktor 60 größer. Die Entstehung eines analen Karzinoms liegt ebenso bei einer 37-fach erhöhten Wahrscheinlichkeit. Mit diesem Wissen sollte in Erwägung gezogen werden, ein standardisiertes Screeningprogramm zu etablieren und somit durch frühestmögliche Intervention die HPV-Inzidenz zu reduzieren. (Morten Frisch et al., 2000)

Die Ähnlichkeit in der Morphologie von Zervixkarzinom, Analkarzinom und Karzinomen im Bereich des Penis und der Vulva führen zu der Hypothese, dass HPV-assoziierte nichtzervikale Infektionen durch HPV-Impfstoffe reduziert werden können.

### 4.3 Gewebeproben und Lokalisationsverteilung

Insgesamt wurden 121 Patienten in diese Studie einbezogen. Dabei wurden 210 Gewebeproben retrospektiv sowohl histologisch als auch molekulargenetisch untersucht. Bei 59 Patienten wurde lediglich eine Gewebeprobe analysiert, während 62 Patienten im Rahmen der Verlaufskontrolle, einer Neuerkrankung oder bedingt durch das Auftreten eines Rezidivs mehr als eine Gewebeprobe entnommen wurde. Die Untersuchung mehrerer Proben eines Patienten ist als eine Schwäche der Studie zu bewerten. Zwar wurde dafür Sorge getragen, dass die gewonnenen Proben eines Patienten weder in einem zeitlichen noch in einem topographischen Zusammenhang stehen, dennoch entstammen sie demselben Individuum. Eine Signifikanztestung von Alter oder Geschlecht wurde daher nicht vorgenommen. Zur statistischen Analyse der nachgewiesenen HPV-DNA und dem entsprechenden histologischen Grading können jedoch alle untersuchten Gewebeproben als unabhängig betrachtet werden.

In dieser Studie wurde bei den untersuchten Gewebeproben die Lokalisationsverteilung zwar statistisch erfasst, eine Einzelbetrachtung der HPV-Prävalenzen in Bezug auf die Entnahmelokalisationen (Penis, Vulva, Anus), wie sie in diversen Vergleichsstudien vorgenommen wurde, erfolgte jedoch nicht. (Alexander Kreuter et al., 2005; Srodon, Stoler, Baber, & Kurman, 2006; Wikström, Hedblad, & Syrjänen, 2012) Gewebeproben aller anogenitaler Lokalisationen mit einer histologisch nachgewiesenen intraepithelialen Neoplasie wurden zusammengefasst und lediglich nach ihrem Invasivitätsgrad (IN I–III) unterteilt und analysiert. Dies war vor allem der sehr geringen Probenanzahl einiger Lokalisationen geschuldet und hätte somit die Signifikanztestungen erschwert.

#### **4.4 Histologisches Grading im Vergleich zum molekulargenetischen HPV-Nachweis**

Alle Proben wurden von einem erfahrenen Dermatohistopathologen histologisch untersucht und gemäß ihrer Entität unterteilt. Die zwei am stärksten vertretenen Entitäten waren mit 39,5 % intraepitheliale Neoplasien Grad III, die sich aus Gewebeproben von Penis, Anus und Vulva zusammensetzten, und Condylomata acuminata mit 41,9 %.

Bezogen auf alle untersuchten Gewebeproben lag die Prävalenz für HPV-DNA von Low-Risk-Subtypen bei 36,7 %, für HPV-DNA von High-Risk-Subtypen bei 24,7 %, für Mischinfektionen aus High-Risk-HPV und Low-Risk-HPV bei 16,2 % und für keine HPV-Infektionen bei 22,4 %. Demnach betrug die HPV-Prävalenz insgesamt 77,6 % unter allen 210 Gewebeproben.

In einer Studie mit rein analen Gewebeproben von 103 Männern, die einen positiven HIV-Status aufwiesen, lag die HPV-Prävalenz bei 86 %. Bei 20 der 103 Patienten (19,4 %) wurde histologisch eine anale intraepitheliale Neoplasie diagnostiziert. (Alexander Kreuter et al., 2005) Bei einer weiteren Studie in der Venerologischen Klinik am Karolinska Institut lag die HPV-Prävalenz unter 47 Männern PIN I–III bei 93 %. Dabei konnte bei 47 von 303 Männern (16 %) histologisch eine penile intraepitheliale Neoplasie nachgewiesen werden. (Wikström et al., 2012) Die HPV-Prävalenzen liegen in den Vergleichsstudien etwas höher, belegen aber die literaturübergreifende hohe HPV-Prävalenz bei immunsupprimierten Patienten und histologisch nachgewiesenen intraepithelialen Neoplasien unterschiedlichster anogenitaler Lokalisationen.

Bei einem systemischen Review von 40 Publikationen, die die HPV-Prävalenz bei Männern aus unterschiedlichen Lokalisationen untersuchten, lag die HPV-Prävalenz zwischen 1,3 und 72,9 %. (Dunne, Nielson, Stone, Markowitz, & Giuliano, 2006) Dieser Wert befindet sich dabei leicht unter der hier ermittelten HPV-Gesamtprävalenz von 77,6 %. Im Vergleich zur eigenen Studie wurden beim herangezogenen Review immunsupprimierte Patienten ausgeschlossen, wodurch die leicht verminderte HPV-Prävalenz erklärt werden könnte. Außerdem wurden nur Publikationen mit männlichen Patienten im Review berücksichtigt.

Zudem ist auffällig, dass in der hier vorliegenden Studie in IN I und II der Nachweis für HPV in der molekularen Analyse im Vergleich zur histologischen Untersuchung sensitiver war. In IN III war die Sensitivität beider Methoden jedoch sehr ähnlich. Es wurde infolgedessen die Vermutung aufgestellt, dass die Differenzierung der HPV-Typen in der molekularen Analyse der IN-I- und -II-Gewebeproben präziser ist, was auf die Sensitivität des PCR-Verfahrens zurückzuführen ist, das die Detektion geringster HPV-DNA-Mengen ermöglicht.

#### 4.5 HPV-Prävalenz bei anogenitalen Feigwarzen

Anogenitale Feigwarzen werden erfahrungsgemäß durch HPV-Infektionen der Low-Risk-Typen ausgelöst. Zentrale Low-Risk-HPV-Subtypen sind hierbei HPV 6, 11, 40, 42 und 61. Von Feigwarzen sind etwa 1–2 % der sexuell aktiven Bevölkerung (15–49 Jahre) betroffen. Die Gesamtprävalenz in der vorliegenden Studie für eine nachgewiesene HPV-Infektion lag für Condylomata acuminata (n = 88) bei 88,6 %. Eine Kombination einer Infektion von High- und Low-Risk-HPV lag unter alle Feigwarzen bei 25,0 %, eine isolierte Infektion von High-Risk-HPV bei 4,5 %. Die am häufigsten identifizierten HPV-Subtypen bei anogenitalen Warzen (in absteigender Reihenfolge) waren HPV 6 (48,8 %), HPV 11 (30,7 %), HPV 16 (13,6 %), HPV 18 (6,8 %), HPV 39 (5,7 %) und HPV 42 (5,7 %). Ausschließlich HPV 6 oder HPV 11 zeigten sich mit 47,7 % bei Feigwarzen. Konfektionen von HPV 6 oder 11 traten mit einem oder mehreren Low-Risk-HPV-Subtypen in 54,5 % der Fälle auf.

Obwohl in dieser Studie Patienten beider Geschlechter vertreten waren, stimmen diese Daten mit Untersuchungen von anogenitalen Warzen bei rein männlichen Patienten aus China im Jahr 2009, Taiwan im Jahr 2012 und einer Meta-Analyse aus 43 Studien überein. (Chan et al., 2009; Cheng, Chen, Sheen, & Tsai, 2012; Wang & Qiao, 2008)

Die Prävalenz für den Nachweis mindestens eines High-Risk-HPV-Subtypen unter allen anogenitalen Feigwarzen lag bei n = 26 (29,5 %). In Kombination mit zusätzlich HPV 6/11 lag die Häufigkeit darunter bei 53,8 %. Auch diesbezüglich lassen sich die Ergebnisse mit mehreren Studien vergleichen. Dabei reicht die Prävalenz für den Nachweis von HPV 16 oder 18 von 9,2–32,3 % und für eine zusätzliche Konfektion mit HPV 6/11 von 60,0–66,7 %. (Brown, Schroeder, Bryan, Stoler, & Fife, 1999; Chan et al., 2009; Cheng et al., 2012)

Auch sind Low-Risk-HPV-Subtypen nachweislich verantwortlich für Larynxpapillome. Rezidivierende Larynxpapillome sind lebensbedrohlich und gehen mit mehrfachen chirurgischen Eingriffen einher. (Gissmann et al., 1983)

Weitere Untersuchungen sind daher erforderlich, um besonders den Einfluss von High-Risk-HPV-Subtypen auf anogenitale Feigwarzen und deren therapeutische Strategie bestimmen zu können. Auch muss über eine Intensivierung von präventiven



geschlechtsübergreifenden Impfmaßnahmen zur Reduktion der Anzahl an Genitalwarzen mittels quadrivalenten Impfstoffs diskutiert werden. So konnte in Australien durch eine flächendeckende Impfung gegen HPV ein erheblicher Rückgang von anogenitalen Warzen beobachtet werden. (Donovan et al., 2011)

#### 4.6 HPV-Prävalenz bei intraepithelialen Neoplasien Grad I–III

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine erhöhte Prävalenz von High-Risk-HPV mit einem steigenden onkogenen Grad einhergeht (High-Risk-HPV in IN I = 41,9 %, IN III = 86,7 %). Werden die einzelnen Entitäten betrachtet, so lag die HPV-Prävalenz für intraepitheliale Neoplasien (n = 114) bei 74,6 %. Bei weiterer Unterteilung lag die HPV-Prävalenz für intraepitheliale Neoplasien Grad I und II (n = 31) bei 41,9 % und für IN III (n = 83) bei 86,7 %. Werden diese Ergebnisse mit einer Meta-Analyse zur Prävalenz von HPV aus 93 Studien auf vier Kontinenten verglichen, so konnten geringfügig niedrigere Prävalenzen beobachtet werden. Hierbei lagen die Prävalenzen bei 67,8 und 85,3 % für VIN I (n = 90) und VIN II/III (n = 1,061); bei 100 % und 90,1 % für VAIN I (n = 107) und VAIN II/III (n = 191) und bei 91,5 % und 93,9 % für AIN I (n = 671) und AIN II/III (n = 609). (De Vuyst et al., 2009) Die eigenen leicht verminderten Prävalenzen im Vergleich zur Meta-Analyse können sich durch die stark reduzierte Stichprobengröße in allen Entitäten erklären lassen. Außerdem wurde in der Meta-Analyse eine Einzelbetrachtung unterschiedlicher anogenitaler Lokalisationsorte vorgenommen und keine lokalisationsunabhängige Gesamtbetrachtung.

Unter allen intraepithelialen Neoplasien Grad I–III war eine Bandbreite an High-Risk- und Low-Risk-HPV-Subtypen zu detektieren. Der am häufigsten nachgewiesene HPV-Subtyp war bei IN I HPV 6 (26,67 %) und bei IN II HPV 16 (12,5 %). Bei IN III wurde am häufigsten HPV 16 (50,6 %) nachgewiesen.

Bei der vergleichbaren Meta-Analyse wurde insgesamt für IN I HPV 6 mit 22,4–36,2 % nachgewiesen. Bei IN II/III ergab sich für HPV 16 ein Nachweis von 57,6–71,9 %, für HPV 33 von 8,0–13,6 %, für HPV von 18 5,0–17,4 % und für HPV 58 von 5,9–13,1 %. Die Prävalenz von High-Risk-HPV 33 lag mit 6 % unter IN III etwas niedriger als in der Meta-Analyse. HPV 58 konnte nicht wie in den Daten der Meta-Analyse nachgewiesen werden.

Zusammenfassend konnte sowohl in der Meta-Analyse als auch in den eigenen Daten belegt werden, dass mit zunehmendem Invasivitätsgrad der anogenitalen Läsionen die HPV-16-Infektionsrate (Studie IN I–III; 6,67–50,6 %/Meta-Analyse; 9,8–37,2 %; 57,6–71,9 %) steigt.

Für die bei IN I nachgewiesenen Subtypen HPV 53 und 61 ergab sich bei genauerer Literaturrecherche kein Anhaltspunkt für das Auftreten. In historischen Studien könnten die erwähnten Subtypen aufgrund der damals noch nicht so weit entwickelten Technik und dem im Vergleich zu heute weniger sensiblen Untersuchungsverfahren damals nicht isoliert worden sein, obwohl sie unter Umständen vorhanden waren. Überraschenderweise konnten in 13,3 % der IN-III-Proben keine HPV-Typen detektiert werden. Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich spekulieren, dass in den Proben zu wenig DNA vorhanden war oder der Chip nur 32 von bisher 200 entdeckten HPV-Subgruppen erkannt hat. So besteht die Möglichkeit, dass die bislang unerkannten HPV-Typen, die nicht detektiert wurden, ebenfalls ein onkogenes Potential besitzen.

#### **4.7 Gemischte HPV-Infektionen als Hauptrisikofaktor**

Die Prävalenz der Mischinfektionen lag gemäß den hier besprochenen Daten in IN III wesentlich höher als in IN I und IN II (IN III: 13,3 %/INI + INII: 3,2 %). Dieses Ergebniss lässt schlussfolgern, dass die Anwesenheit der HPV-Mischinfektionen in IN I und N II ursächlich für eine Transformation in den höheren onkogenen histologischen Grad IN III ist. Die Schlussfolgerung aus dieser These wäre die Notwendigkeit eines engmaschigen Screening-Programms bereits aller Feigwarzen sowie IN-I- und IN-II-Neoplasien, um die Entstehung maligner Veränderungen frühzeitig erkennen zu können.

Weiterhin wurden auch in Feigwarzen multiple HPV-Typen detektiert. Darunter befinden sich ebenso zahlreiche High-Risk-Typen (HPV 16: 13,6 %; HPV 18: 6,8 %; HPV 39: 5,7 %). Auch diese Ergebnisse untermauern die Vermutung, dass bereits bei benignen Veränderungen, wie es bei condyloma acuminata der Fall ist, onkogenes Potential vorliegt. Vor diesem Hintergrund muss in Zukunft an neuen Präventionsverfahren gearbeitet werden, um HPV-Infektionen mit folgenschweren Neoplasien vorbeugen zu können.

#### **4.8 Verhinderung von IN I–III durch Impfung**

Die vorhandenen Impfstoffe haben in zahlreichen Studienmodellen im Kampf gegen HPV-assoziierte anogenitale Warzen bereits ihre hohe Effektivität und eine Kreuzprotektion zu anderen HPV-Typen bewiesen. So konnte zum Beispiel bei Studien in Australien, in denen die Impfung kostenlos angeboten wurde, ein signifikant geringeres Auftreten von HPV-Infektionen im genitalen Bereich beobachtet werden. (Franco & Harper, 2005; Langeron et al., 2017)

Seit 2007 ist die standartgemäße HPV-Impfung (Typen 16 und 18) bei weiblichen Jugendlichen eingeführt worden. Darüber hinaus folgte 2018 das Votum der STIKO, bei jugendlichen Männern die HPV-Impfung ebenfalls als Standardimpfung einzuführen. (Ständige Impfkommision, 2018)

Um eine Herdenimmunität zu erzeugen, empfehlen die amerikanischen STI-Richtlinien des Centers for Disease Control die Impfabdeckung für alle Männer. (Plotkina, 1999) Da eine HPV-Infektion vor allem sexuell erfolgt, erfüllt diese alle Kriterien für eine globale Pandemie. Die Erkrankung betrifft vor allem junge Patienten im sexuell aktiven Alter und ihre Therapie erweist sich als schwierig, langwierig und kostenintensiv. Auf Grund der extremen Häufigkeit der Erkrankung sollten in weiteren Anschlussstudien mehr Kenntnisse über die Epidemiologie, über die Präventionsmaßnahmen und die therapeutischen Interventionen erlangt werden, um die Pandemie nachhaltig eindämmen zu können.

#### **4.9 Risikobewertung des low risk HPV-Typ 42 nach aktueller Studienlage**

Nach aktueller Studienlage muss auch der vermeintliche low risk HPV-Typ 42 neu bewertet werden. So konnte eine Studie von 2023 das humane Papillomavirus 42 als Auslöser des digitalen papillären Adenokarzinoms (DPA), einem aggressiven Krebs, der an den Fingern und den Zehen auftritt, identifizieren. (Leiendecker et al., 2023) Die Studienergebnisse zeigen, dass der bislang als nicht onkogen eingestufte HPV-Typ 42, molekulare Merkmale onkogener Hochrisiko-HPV-Typen aufweist.

## 5 Zusammenfassung

Humane Papillomaviren können eine Vielzahl von Erkrankungen verursachen. Bei persistierenden Infektionen mit onkogenen HPV-Typen kann es im anogenitalen Bereich zur Entwicklung von intraepithelialen Neoplasien unterschiedlichster Invasivitäten oder eines anogenitalen Karzinoms kommen. In 60–70 % der Fälle sind dafür die HPV-Typen 16 und 18 verantwortlich.

Immunsuppressive Erkrankungen wie HIV begünstigen eine Erkrankung an HPV-Kontagion und erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer intraepithelialen Neoplasie (IN) oder eines anogenitalen Karzinoms um ein Vielfaches.

So war das Ziel dieser Studie, aus einem Patientenkollektiv aus immungeschwächten HIV-positiven Probanden und nicht immunsupprimierten HIV-negativen Probanden das HPV-Infektionsmuster mit der Histologie von anogenitalen IN zu vergleichen.

Dafür wurden Gewebeproben (n = 210) aus dem anogenitalen Bereich retrospektiv neu analysiert, auf die HPV-DNA-Prävalenz untersucht und den histologischen Befunden gegenübergestellt.

Es konnte in dieser Studie bei Condylomata acuminata ein stark erhöhtes Auftreten von High-Risk-HPV-Subtypen bei HIV-infizierten im Vergleich zu HIV-negativen Gewebeproben nachgewiesen werden (15,4 % zu 47,5 %). Bei der Entität IN III konnte ebenso eine erhöhte Prävalenz bei den immunsupprimierten HIV-positiven Patienten bestimmt werden (20,5 % zu 53,0 %).

Die Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von HPV-Subtypen bei intraepithelialen Neoplasien unterschiedlicher Entitäten und Lokalisationen zeigte eine Zunahme der HPV-Prävalenz mit steigendem Invasivitätsgrad IN I zu IN III (41,9 % zu 86,7 %). Dabei konnte eine Abnahme von Low-Risk-HPV 6 von IN I zu IN III festgestellt werden (26,67 % zu 15,7 %), während eine Zunahme von High-Risk-HPV 16 und 18 beobachtet werden konnte (6,67 % zu 50,6 % und 0,0 % zu 7,2 %).

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Entität Condylomata acuminata einen hohen Anteil an verschiedensten HPV-Subtypen enthält, unter denen sich in 29,5 % der Fälle auch Hoch-Risiko-Typen für dysplastische Gewebeeränderungen befinden. Dabei waren die drei am häufigsten vertretenen Hoch-Risiko-Subtypen 16 (13,6 %), 18 (6,8 %) und 39 (5,7 %).

Die Studiendaten belegen, dass auch vermeintlich gutartige Tumore wie Condylomata acuminata onkogenes Potential besitzen und intraepitheliale Neoplasien als Vorläuferläsionen für anogenitale Karzinome angesehen werden können. Somit ist vor allem bei immunsupprimierten Patienten die Etablierung eines erfolgreichen Screening-Programms zur rechtzeitigen Erkennung und Behandlung von HPV-Infektionen anzustreben. Darüber hinaus bedarf es geeigneter Präventionsmaßnahmen zur Senkung der Prävalenz von HPV-Infektionen.

## 6 Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

$\alpha$	Alpha
AIN	Anale intraepitheliale Neoplasie
AKs	Aktinische Keratosen
ALA	5-Aminolävulinsäure
ART	antiretrovirale Therapie
ASCUS	atypical squamous cells of undetermined significance
$\beta$	Beta
bp	Basenpaare
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CA	California
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie
CIS	Carcinoma in situ
cm	Zentimeter
©	Copyright
Condy. ac.	Condylomata acuminata
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr. med.	Doctor medicinae
E	early
E1, E2, E4, E5, E6, E7	Virale Onkoproteine (HPV)
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraessigsäure
EGFR	epidermal growth factor receptor
EMA	European Medicines Agency
EtBr	Ethidiumbromid
EV	Epidermodysplasia verruciformis
FD	Fluoreszenzdiagnostik
HE	Hämatoxylin-Eosin



HIV	Humanes Immundefizienzvirus
HPV	Humane Papillomaviren
HR	High-Risk
HRA	high-resolution anoscopy
HSIL	high-grade squamous intraepithelial lesion
HSV	Herpes simplex Virus
ICTV	Internationales Komitee für Taxonomie von Viren
ID	Identifikation
IN	intraepitheliale Neoplasie
Inc.	Incorporation
KA	Keratoakanthom
L	late
L1	major capsid protein, virales Strukturprotein, 'late 1'
L2	minor capsid protein, virales Strukturprotein, 'late 2'
LCD	liquid crystal display
LCR	long control region
LR	Low-Risk
LSIL	low-grade squamous intraepithelial lesion
M	Molar, Mol/Liter
max.	maximal
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
min	Minute(n)
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
mM	Millimolar, Millimol/Liter
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MS	Microsoft
MSM	Männer, die Sex mit Männern haben
MY09/11	Generisches Primerset für PCR
n	Fallzahl in einer statistischen Gruppe
NILM	cytology graded negative for intraepithelial lesion or malignancy

nm	Nanometer
Nr.	Nummer
NTP	Nukleosidtriphosphat
NY	New York
ORF	Open reading frame
P chi	Pearson Chi-Quadrat-Test
PAIN	perianale intraepitheliale Neoplasie
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Privatdozent
ph	potentia hydrogenii
PIN	penile intraepitheliale Neoplasie
Prof.	Professor
%	Prozent
®	registered trademark
Rb	Retinoblastom
RNA	Ribonukleinsäure
RPP	recurrent respiratory papillomatosis
RT	Raumtemperatur
SCC	Spinozelluläres Karzinom
SD	standard deviation
sek	Sekunde(n)
STIKO	Ständige Impfkommission
TAE	TRIS-Acetat-EDTA
Taq	Thermus aquaticus
™	Unregistered trademark
TRIS	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
U	unit
UE	Unbedenklichkeitserklärung
URR	upstreaming regulatory region
UV	ultraviolett
V	Volt
VAIN	vaginale intraepitheliale Neoplasie
VIN	vulväre intraepitheliale Neoplasie
VLP	virus like particle

## 7 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ANZAHL VON $\alpha$ -, $\beta$ - UND $\chi$ -PAPILLOMAVIREN NACH KALENDERJAHREN. (VIROLOGY, VOLUME 476, FEBRUARY 2015, PAGES 341–344 FIG. 2) (BZHALAVA, EKLUND, & DILLNER, 2015) .....	2
ABBILDUNG 2: PHYLOGENETISCHER BAUM, ENTWICKELT AUS DER L1-NUKLEOTIDSEQUENZ VON 189 PAPILLOMAVIREN. ((H. U. BERNARD ET AL., 2010) .....	4
ABBILDUNG 3: SCHEMATISCHER AUFBAU DES GENOMS VON HIGH-RISK-HPV 16. E1 (REPLIKATION), E2 (REPLIKATION, TRANSKRIPTION), E4 (VIRUSFREISETZUNG), E5 (IMMUNABWEHR ÜBER EXPRESSION VON EGFR), E6 (BINDUNG AN P53) UND E7 (BINDUNG AN PRB) SIND DIE FRÜHEN GENE (EARLY GENES). L1 UND L2 KODIEREN FÜR DIE HAUPT- UND NEBEN-KAPSID-PROTEINE ALS SPÄTE GENE (LATE GENES). LCR IST DIE NICHT KODIERENDE REGION. (CROSBIE & KITCHENER, 2006) .....	5
ABBILDUNG 4: LEBENSZYKLUS VON HIGH-RISK-HPV IN DER GEBÄRMUTTERHALSSCHLEIMHAUT MIKROLÄSIONEN ERMÖGLICHEN DIE INFEXION DER BASALLAMINA DES MEHRSCICHTIGEN PLATTENEPIHEL. (DOORBAR, 2007) .....	8
ABBILDUNG 5: PERIANALE GENITALWARZEN IN DER CUTIS DES M. CORRUGATOR ANI. (FOTOLABOR DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK MÜNCHEN).....	15
ABBILDUNG 6: UNBEDENKLICHKEITSBESCHEINIGUNG DER ETHIKKOMMISSION DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN. ....	29
ABBILDUNG 7: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER DNA-FRAGMENTE NACH AGAROSE-GELELEKTROPHORESE.....	39
ABBILDUNG 8: BEISPIELBERICHT MIT GRAPHISCHER LCD-CHIP-DARSTELLUNG UND HPV-SUBTYPEN-ERGEBNISTABELLE MIT SIGNALWERTEN, INTENSITÄTSBALKEN UND FARBLICHER RISIKOBEWERTUNG. ....	45
ABBILDUNG 9: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER GESCHLECHTERVERTEILUNG IM KREISDIAGRAMM. ....	47
ABBILDUNG 10: ALTERSGRUPPENVERTEILUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS GRAPHISCH DARGESTELLT.....	49
ABBILDUNG 11: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DES HIV-STATUS IN ABHÄNGIGKEIT VOM GESCHLECHT.....	50
ABBILDUNG 12: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER HÄUFIGKEITSVERTEILUNG VON JEDEM EINZELNEN HPV-SUBTYPEN BEI CONDYL. AC. (N = 88) IN %.....	58

## 8 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: EINTEILUNG DES ONKOGENEN POTENTIALS VON HOCH-RISIKO- $\alpha$ -HPV-TYPEN (V. BOUVARD ET AL., 2009) ...	6
TABELLE 2: PRÄVALENZ VON HPV-SUBTYPEN IN VULVÄRER INTRAEPITHELIALER NEOPLASIE (VIN I-III), VULVAKARZINOM (CE VULVÄR), VAGINALE INTRAEPITHELIALE NEOPLASIE (VAIN I-III), VAGINALKARZINOM (CE VAGINAL), ANALE INTRAEPITHELIALE NEOPLASIE (AIN I-III), ANALKARZINOM (CE ANAL) IN PROZENT (%). (DE VUYST, CLIFFORD, NASCIMENTO, MADELEINE, & FRANCESCHI, 2009) .....	18
TABELLE 3: HISTOLOGISCHE TERMINOLOGIE BEI BERICHTEN ÜBER GEWEBEBIOPSIEN. ....	19
TABELLE 4: KODIERUNGSPLAN .....	32
TABELLE 5: PCR-PRIMER 'MY09/11' .....	36
TABELLE 6: PIPETTIERSCHEMA FÜR DNA-AMPLIFIKATION JE PROBE .....	37
TABELLE 7: EINSTELLUNG DES ZYKLERS FÜR DEN REAKTIONSZYKLUS. ....	38
TABELLE 8: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER ALTERSGRUPPEN ABSOLUT UND PROZENTUAL. ....	48
TABELLE 9: GESCHLECHTSABHÄNGIGE HIV-ERKRANKUNGSVERTEILUNG ABSOLUT UND PROZENTUAL. ....	50
TABELLE 10: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG NACH GESCHLECHT UND LOKALISATIONSORT. ....	51
TABELLE 11: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DES HISTOLOGISCHEN GRADINGS ABSOLUT UND PROZENTUAL.....	52
TABELLE 12: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER HPV-TYPEN PROZENTUAL. ....	53
TABELLE 13: GEGENÜBERSTELLUNG DER SUBTYPENKOMBINATION NACH CHIP HPV TYPE 3.5 HYBRIDISIERUNG UND HISTOLOGISCHES GRADING ABSOLUT UND PROZENTUAL.....	54
TABELLE 14: GEGENÜBERSTELLUNG VON HISTOLOGISCHEM GRADING UND MOLEKULARGENETISCHEM HPV-NACHWEIS... ..	55
TABELLE 15: GEGENÜBERSTELLUNG MOLEKULARGENETISCHE ANALYSE UND HISTOLOGISCHES GRADING. ....	56
TABELLE 16: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG NACH HPV-RISIKOSTUFEN BEI HISTOLOGISCH GESICHERTEN CONDYLOMATA ACUMINATA.....	57
TABELLE 17: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG VON HPV 6 UND 11 IN DEN EINZELNEN ENTITÄTEN.....	59
TABELLE 18: GEGENÜBERSTELLUNG VON HPV-RISIKOSTUFE, HIV-STATUS UND HISTOLOGISCHEM GRADING.....	61
TABELLE 19: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER HIGH-RISK- UND LOW-RISK-HPV-SUBTYPEN IN IN I. ....	62
TABELLE 20: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER HIGH-RISK- UND LOW-RISK-HPV-SUBTYPEN IN IN II. ....	63
TABELLE 21: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER HIGH-RISK- UND LOW-RISK-HPV-SUBTYPEN IN IN III.....	64
TABELLE 22: GRAD DER INVASIVITÄTS UND MOLEKULARGENETISCHE UNTERSUCHUNG VON HPV 16 UND HPV 18. ....	65
TABELLE 23: GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER PROGRESSION EINZELNER HIGH-RISK-HPV UNTER EINBEZUG VON MISCHINFEKTIONEN.....	66

## 9 Literaturverzeichnis

- Asgari, M. M., Kiviat, N. B., Critchlow, C. W., Stern, J. E., Argenyi, Z. B., Raugi, G. J., . . . de Villiers, E.-M. (2008). Detection of human papillomavirus DNA in cutaneous squamous cell carcinoma among immunocompetent individuals. *Journal of investigative dermatology*, *128*(6), 1409-1417.
- Baken, L. A., Koutsky, L. A., Kuypers, J., Kosorok, M. R., Lee, S.-K., Kiviat, N. B., & Holmes, K. K. (1995). Genital human papillomavirus infection among male and female sex partners: prevalence and type-specific concordance. *Journal of Infectious Diseases*, *171*(2), 429-432.
- Bastola, S., Halalau, A., Kc, O., & Adhikari, A. (2018). A Gigantic Anal Mass: Buschke–Löwenstein Tumor in a Patient with Controlled HIV Infection with Fatal Outcome. *Case reports in infectious diseases*, 2018.
- Beachler, D. C., D'Souza, G., Sugar, E. A., Xiao, W., & Gillison, M. L. (2013). Natural history of anal vs oral HPV infection in HIV-infected men and women. *Journal of Infectious Diseases*, *208*(2), 330-339.
- Bernard, H.-U., & Apt, D. (1994). Transcriptional control and cell type specificity of HPV gene expression. *Archives of dermatology*, *130*(2), 210-215.
- Bernard, H.-U., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., & de Villiers, E.-M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, *401*(1), 70-79.
- Bernard, H. U., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., & de Villiers, E. M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, *401*(1), 70-79.  
doi:10.1016/j.virol.2010.02.002
- Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., . . . Galichet, L. (2009). A review of human carcinogens—Part B: biological agents. *The lancet oncology*, *10*(4), 321-322.
- Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., . . . Cogliano, V. (2009). A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol*, *10*(4), 321-322. doi:10.1016/s1470-2045(09)70096-8
- Breese, P. L., Judson, F. N., Penley, K. A., & Douglas, J. J. (1995). Anal human papillomavirus infection among homosexual and bisexual men: prevalence of type-specific infection and association with human immunodeficiency virus. *Sexually transmitted diseases*, *22*(1), 7-14.
- Brown, D. R., Schroeder, J. M., Bryan, J. T., Stoler, M. H., & Fife, K. H. (1999). Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions from otherwise healthy and immunosuppressed patients. *Journal of clinical microbiology*, *37*(10), 3316-3322.
- Burchell, A. N., Winer, R. L., de Sanjosé, S., & Franco, E. L. (2006). Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*, *24*, S52-S61.
- Bzhalava, D., Eklund, C., & Dillner, J. (2015). International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology*, *476*, 341-344.
- Bzhalava, D., Guan, P., Franceschi, S., Dillner, J., & Clifford, G. (2013). A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology*, *445*(1-2), 224-231.

- Bzhalava, D., Mühr, L. S. A., Lagheden, C., Ekström, J., Forslund, O., Dillner, J., & Hultin, E. (2014). Deep sequencing extends the diversity of human papillomaviruses in human skin. *Scientific reports*, 4, 5807.
- Carter, J. J., Madeleine, M. M., Shera, K., Schwartz, S. M., Cushing-Haugen, K. L., Wipf, G. C., . . . Galloway, D. A. (2001). Human papillomavirus 16 and 18 L1 serology compared across anogenital cancer sites. *Cancer research*, 61(5), 1934-1940.
- Chan, P. K., Luk, A. C., Luk, T. N., Lee, K.-F., Cheung, J. L., Ho, K.-M., & Lo, K.-K. (2009). Distribution of human papillomavirus types in anogenital warts of men. *Journal of Clinical Virology*, 44(2), 111-114.
- Cheng, Y.-P., Chen, C.-W., Sheen, Y.-S., & Tsai, T.-F. (2012). Genotype distribution of human papillomavirus in anogenital warts of male patients in Taiwan. *Dermatologica Sinica*, 30(3), 85-89.
- Chin-Hong, P. V., Berry, J. M., Cheng, S.-C., Catania, J. A., Da Costa, M., Darragh, T. M., . . . Palefsky, J. M. (2008). Comparison of patient-and clinician-collected anal cytology samples to screen for human papillomavirus-associated anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men. *Annals of internal medicine*, 149(5), 300-306.
- Chin-Hong, P. V., Vittinghoff, E., Cranston, R. D., Buchbinder, S., Cohen, D., Colfax, G., . . . Judson, F. (2004). Age-specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *The Journal of infectious diseases*, 190(12), 2070-2076.
- Chow, E. P., Machalek, D. A., Tabrizi, S. N., Danielewski, J. A., Fehler, G., Bradshaw, C. S., . . . Fairley, C. K. (2017). Quadrivalent vaccine-targeted human papillomavirus genotypes in heterosexual men after the Australian female human papillomavirus vaccination programme: a retrospective observational study. *The Lancet infectious diseases*, 17(1), 68-77.
- Clark, M. A., Hartley, A., & Geh, J. I. (2004). Cancer of the anal canal. *The lancet oncology*, 5(3), 149-157.
- Critchlow, C. W., Hawes, S. E., Kuypers, J. M., Goldbaum, G. M., Holmes, K. K., Surawicz, C. M., & Kiviat, N. B. (1998). Effect of HIV infection on the natural history of anal human papillomavirus infection. *Aids*, 12(10), 1177-1184.
- Crosbie, E. J., & Kitchener, H. C. (2006). Human papillomavirus in cervical screening and vaccination. *Clinical Science*, 110(5), 543-552.
- de Oliveira, D. E. (2007). DNA viruses in human cancer: an integrated overview on fundamental mechanisms of viral carcinogenesis. *Cancer letters*, 247(2), 182-196.
- de Sanjose, S., Almirall, R., Lloveras, B., Font, R., Diaz, M., Muñoz, N., . . . Herrero, R. (2003). Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sexually transmitted diseases*, 30(10), 788-793.
- De Vuyst, H., Clifford, G. M., Nascimento, M. C., Madeleine, M. M., & Franceschi, S. (2009). Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta - analysis. *International Journal of Cancer*, 124(7), 1626-1636.
- der Ständigen Impfkommision, A. H. (2018). Wissenschaftliche Begründung für die Empfehlung der HPV-Diese Woche 26/2018 Impfung für Jungen im Alter von 9 bis 14 Jahren.
- Dietrich, A., Hermans, C., Heppt, M., Ruzicka, T., Schaubert, J., & Reinholz, M. (2015). Human papillomavirus status, anal cytology and histopathological outcome in HIV - positive patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 29(10), 2011-2018.

- Donovan, B., Franklin, N., Guy, R., Grulich, A. E., Regan, D. G., Ali, H., . . . Fairley, C. K. (2011). Quadrivalent human papillomavirus vaccination and trends in genital warts in Australia: analysis of national sentinel surveillance data. *The Lancet infectious diseases*, *11*(1), 39-44.
- Doorbar, J. (2007). Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Disease markers*, *23*(4), 297-313.
- Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I. G., Stoler, M., Broker, T. R., & Stanley, M. A. (2012). The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, *30*, F55-F70.
- Dunne, E. F., Nielson, C. M., Stone, K. M., Markowitz, L. E., & Giuliano, A. R. (2006). Prevalence of HPV infection among men: a systematic review of the literature. *The Journal of infectious diseases*, *194*(8), 1044-1057.
- Esser, S. (2013). DAIG-Leitlinie: Anale Dysplasie und Analkarzinom bei HIV-Infizierten: Prävention, Diagnostik und Therapie.
- Evander, M., Edlund, K., Gustafsson, Å., Jonsson, M., Karlsson, R., Rylander, E., & Wadell, G. (1995). Human papillomavirus infection is transient in young women: a populationbased cohort study. *Journal of Infectious Diseases*, *171*(4), 1026-1030.
- Fehr, M. K., Hornung, R., Degen, A., Schwarz, V. A., Fink, D., Haller, U., & Wyss, P. (2002). Photodynamic therapy of vulvar and vaginal condyloma and intraepithelial neoplasia using topically applied 5 - aminolevulinic acid. *Lasers in surgery and medicine*, *30*(4), 273-279.
- Fenger, C., & Nielsen, V. T. (1986). Intraepithelial neoplasia in the anal canal: the appearance and relation to genital neoplasia. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series A: Pathology*, *94*(1 - 6), 343-349.
- Ferrera, A., Velema, J. P., Figueroa, M., Bulnes, R., Toro, L. A., Claros, J. M., . . . Melchers, W. J. (1999). Human papillomavirus infection, cervical dysplasia and invasive cervical cancer in Honduras: A case - control study. *International Journal of Cancer*, *82*(6), 799-803.
- Forcier, M., & Musacchio, N. (2010). An overview of human papillomavirus infection for the dermatologist: disease, diagnosis, management, and prevention. *Dermatologic therapy*, *23*(5), 458-476.
- Forslund, O., Lindelöf, B., Hradil, E., Nordin, P., Stenquist, B., Kirnbauer, R., . . . Dillner, J. (2004). High prevalence of cutaneous human papillomavirus DNA on the top of skin tumors but not in "Stripped" biopsies from the same tumors. *Journal of investigative dermatology*, *123*(2), 388-394.
- Foulongne, V., Sauvage, V., Hebert, C., Dereure, O., Cheval, J., Gouilh, M. A., . . . Manuguerra, J.-C. (2012). Human skin microbiota: high diversity of DNA viruses identified on the human skin by high throughput sequencing. *PloS one*, *7*(6), e38499.
- Franceschi, S., Herrero, R., Clifford, G. M., Snijders, P. J., Arslan, A., Anh, P. T. H., . . . Lazcano - Ponce, E. (2006). Variations in the age - specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *International Journal of Cancer*, *119*(11), 2677-2684.
- Franco, E. L., & Harper, D. M. (2005). Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine*, *23*(17-18), 2388-2394.
- Frisch, M. (2002). Inzidenz und Risikofaktoren des Analkarzinoms. *Der Onkologe*, *8*(6), 562-568. doi:10.1007/s00761-002-0329-5
- Frisch, M., Biggar, R. J., & Goedert, J. J. (2000). Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired

- immunodeficiency syndrome. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(18), 1500-1510.
- Gall, S. A. (2001). Female genital warts: global trends and treatments. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 9(3), 149-154.
- Gervaz, P., Hirschel, B., & Morel, P. (2006). Molecular biology of squamous cell carcinoma of the anus. *British journal of surgery*, 93(5), 531-538.
- Gissmann, L., Wolnik, L., Ikenberg, H., Koldovsky, U., Schnürch, H. G., & Zur Hausen, H. (1983). Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80(2), 560-563.
- Giuliano, A. R., Nielson, C. M., Flores, R., Dunne, E. F., Abrahamsen, M., Papenfuss, M. R., . . . Harris, R. B. (2007). The optimal anatomic sites for sampling heterosexual men for human papillomavirus (HPV) detection: the HPV detection in men study. *The Journal of infectious diseases*, 196(8), 1146-1152.
- Giuliano, A. R., Palefsky, J. M., Goldstone, S., Moreira Jr, E. D., Penny, M. E., Aranda, C., . . . Hillman, R. (2011). Efficacy of quadrivalent HPV vaccine against HPV infection and disease in males. *New England Journal of Medicine*, 364(5), 401-411.
- Goedert, J. J., Coté, T. R., Virgo, P., Scoppa, S. M., Kingma, D. W., Gail, M. H., . . . Group, A.-C. M. S. (1998). Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. *The lancet*, 351(9119), 1833-1839.
- Gross, G. (2001). Condylomata acuminata und andere HPV-assoziierte Krankheitsbilder des Genitale und der Harnröhre Leitlinie der Deutschen STD-Gesellschaft (DSTDG). *Der Hautarzt*, 52(5), 405-410.
- Gross, G. (2011). Konservative Behandlungsmethoden anogenitaler HPV-Infektionen Conservative treatment of anogenital HPV infections. *Der Hautarzt*, 62(1), 34-39.
- Gross, G., Ikenberg, H., Petry, K. U., Pfister, H., Schneede, P., Schöfer, H., & Szeimies, R. M. (2008). Condylomata acuminata und andere HPV - assoziierte Krankheitsbilder von Genitale, Anus und Harnröhre. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 6(2), 153-162.
- Group, F. I. S. (2007a). Prophylactic efficacy of a quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccine in women with virological evidence of HPV infection. *The Journal of infectious diseases*, 196(10), 1438-1446.
- Group, F. I. S. (2007b). Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *New England Journal of Medicine*, 356(19), 1915-1927.
- Gutiérrez, J., García-Villa, E., Ocadiz-Delgado, R., Cortés-Malagón, E. M., Vázquez, J., Roman-Rosales, A., . . . Üren, A. (2015). Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein upregulates the retinoic acid receptor-beta expression in cervical cancer cell lines and K14E7 transgenic mice. *Molecular and cellular biochemistry*, 408(1-2), 261-272.
- Harper, D. M., Franco, E. L., Wheeler, C., Ferris, D. G., Jenkins, D., Schuind, A., . . . De Carvalho, N. S. (2004). Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *The lancet*, 364(9447), 1757-1765.
- Ingram, D. L., White, S. T., Lyna, P. R., Crews, K. F., Schmid, J., Everett, V. D., & Koch, G. (1992). Gardnerella vaginalis infection and sexual contact in female children. *Child abuse & neglect*, 16(6), 847-853.
- Inkster, M. D., Szmulowicz, U. M., Wiland, H. O., & Wu, J. S. (2016). Anal Condyloma Acuminata and Anal Dysplasia *Anorectal Disease* (pp. 189-209): Springer.



- Jablonska, S., Dabrowski, J., & Jakubowicz, K. (1972). Epidermodysplasia verruciformis as a model in studies on the role of papovaviruses in oncogenesis. *Cancer research*, 32(3), 583-589.
- Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., & Ward, E. (2010). Cancer statistics, 2010. *CA: a cancer journal for clinicians*, 60(5), 277-300.
- 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 specificity in a population-based study. *Obstet Gynecol*, 90(5), 744-747. doi:10.1016/s0029-7844(97)00418-3
- Joura, E. A., Giuliano, A. R., Iversen, O.-E., Bouchard, C., Mao, C., Mehlsen, J., . . . Lazcano-Ponce, E. (2015). A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *New England Journal of Medicine*, 372(8), 711-723.
- Kaderli, R., Schnüriger, B., & Brügger, L. E. (2014). The impact of smoking on HPV infection and the development of anogenital warts. *International journal of colorectal disease*, 29(8), 899-908.
- Kerscher, M. (2004). Funktionen und Aufbau der Haut *Dermatocosmetik* (pp. 1-25): Springer.
- Kines, R. C., Thompson, C. D., Lowy, D. R., Schiller, J. T., & Day, P. M. (2009). The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48), 20458-20463.
- Knoblich, R., & Failing Jr, J. F. (1967). Giant condyloma acuminatum (Buschke-Löwenstein tumor) of the rectum. *American journal of clinical pathology*, 48(4), 389-395.
- Kraut, A. A., Schink, T., Schulze-Rath, R., Mikolajczyk, R. T., & Garbe, E. (2010). Incidence of anogenital warts in Germany: a population-based cohort study. *BMC infectious diseases*, 10(1), 360.
- Kreuter, A., Brockmeyer, N. H., Hochdorfer, B., Weissenborn, S. J., Stücker, M., Swoboda, J., . . . Wieland, U. (2005). Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52(4), 603-608.
- Kreuter, A., Potthoff, A., Brockmeyer, N., Gambichler, T., Swoboda, J., Stücker, M., . . . Wieland, U. (2010). Anal carcinoma in human immunodeficiency virus - positive men: results of a prospective study from Germany. *British Journal of Dermatology*, 162(6), 1269-1277.
- Kreuter, A., Reimann, G., Esser, S., Rasokat, H., Hartmann, M., Swoboda, J., . . . Altmeyer, P. (2003). Screening und Therapie der analen intraepithelialen Neoplasie (AIN) und des Analkarzinoms bei HIV-Infektion. *Dtsch Med Wochenschr*, 128, 1957-1962.
- Largerone, N., Petry, K. U., Jacob, J., Bianic, F., Anger, D., & Uhart, M. (2017). An estimate of the public health impact and cost-effectiveness of universal vaccination with a 9-valent HPV vaccine in Germany. *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research*, 17(1), 85-98.
- Lass, J. H., Jenson, A. B., Papale, J. J., & Albert, D. M. (1983). Papillomavirus in human conjunctival papillomas. *American journal of ophthalmology*, 95(3), 364-368.
- Leiendecker, L., Neumann, T., Jung, P., Cronin, S., Steinacker, T., Schleiffer, A., ... Wiesner, T. (2023). Human Papillomavirus 42 Drives Digital Papillary Adenocarcinoma and Elicits a Germ Cell-like Program Conserved in HPV-Positive Cancers. *Cancer Discovery*, 13(1),70-84

- Li, L., Dai, M., Clifford, G., Yao, W., Arslan, A., Li, N., . . . Qiao, Y. (2006). Human papillomavirus infection in Shenyang City, People's Republic of China: a population-based study. *British journal of cancer*, 95(11), 1593.
- Manning, S. E., Thorpe, L. E., Ramaswamy, C., Hajat, A., Marx, M. A., Karpati, A. M., . . . Nash, D. (2007). Estimation of HIV prevalence, risk factors, and testing frequency among sexually active men who have sex with men, aged 18–64 years—New York City, 2002. *Journal of Urban Health*, 84(2), 212-225.
- McKinney, C. C., Hussmann, K. L., & McBride, A. A. (2015). The role of the DNA damage response throughout the papillomavirus life cycle. *Viruses*, 7(5), 2450-2469.
- Melbye, M., Cote, T., Biggar, R., Kessler, L., & Gail, M. (1994). High incidence of anal cancer among AIDS patients. *The Lancet*, 343(8898), 636-639.
- Melbye, M., Coté, T. R., Biggar, R., Kessler, L., & Gail, M. (1994). High incidence of anal cancer among AIDS patients. *The lancet*, 343(8898), 636-639.
- Moore, C. E., Wiatrak, B. J., Mcclatchey, K. D., Koopmann, C. F., Thomas, G. R., Bradford, C. R., & Carey, T. E. (1999). High-risk human papillomavirus types and squamous cell carcinoma in patients with respiratory papillomas. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 120(5), 698-705.
- Moscicki, A.-B., Schiffman, M., Kjaer, S., & Villa, L. L. (2006). Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine*, 24, S42-S51.
- Mosthaf, F., Hanhoff, N., Goetzenich, A., Wolf, E., & Knechten, H. (2006). High incidence of non-AIDS-defined cancers among HIV-infected patients in Germany. A 3-year nationwide review. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, 131(34-35), 1849-1852.
- Mühr, L. S. A., Eklund, C., & Dillner, J. (2018). Towards quality and order in human papillomavirus research. *Virology*, 519, 74-76.
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*, 155, 335-350.
- Nielson, C. M., Harris, R. B., Nyitray, A. G., Dunne, E. F., Stone, K. M., & Giuliano, A. R. (2010). Consistent condom use is associated with lower prevalence of human papillomavirus infection in men. *The Journal of infectious diseases*, 202(3), 445-451.
- Nindl, I., Gottschling, M., & Stockfleth, E. (2007). Human papillomaviruses and non-melanoma skin cancer: basic virology and clinical manifestations. *Disease markers*, 23(4), 247-259.
- Nyitray, A. G., Carvalho da Silva, R. J., Baggio, M. L., Lu, B., Smith, D., Abrahamsen, M., . . . Giuliano, A. R. (2011). Age-specific prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus (HPV) among men who have sex with women and men who have sex with men: the HPV in men (HIM) study. *Journal of Infectious Diseases*, 203(1), 49-57.
- Ortoski, R. A., & Kell, C. S. (2011). Anal cancer and screening guidelines for human papillomavirus in men. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 111(3\_suppl\_2), S35-S43.
- Palefsky, J. M., Giuliano, A. R., Goldstone, S., Moreira Jr, E. D., Aranda, C., Jessen, H., . . . Stoler, M. H. (2011). HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia. *New England Journal of Medicine*, 365(17), 1576-1585.
- Palefsky, J. M., Holly, E. A., Efirdc, J. T., Da Costa, M., Jay, N., Berry, J. M., & Darragh, T. M. (2005). Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. *Aids*, 19(13), 1407-1414.
- Palefsky, J. M., Holly, E. A., Ralston, M. L., Da Costa, M., & Greenblatt, R. M. (2001). Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human

- immunodeficiency virus (HIV)—Positive and high-risk HIV-negative women. *Journal of Infectious Diseases*, 183(3), 383-391.
- Parkin, D. M., & Bray, F. (2006). The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*, 24, S11-S25.
- Piketty, C., Darragh, T. M., Da Costa, M., Bruneval, P., Heard, I., Kazatchkine, M. D., & Palefsky, J. M. (2003). High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Annals of internal medicine*, 138(6), 453-459.
- Pirota, M., Stein, A. N., Conway, E. L., Harrison, C., Britt, H., & Garland, S. (2010). Genital warts incidence and healthcare resource utilisation in Australia. *Sexually transmitted infections*, 86(3), 181-186.
- Plotkina, S. A. (1999). Vaccination against the major infectious diseases. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 322(11), 943-951.
- Putral, L. N., Bywater, M. J., Gu, W., Saunders, N. A., Gabrielli, B. G., Leggatt, G. R., & McMillan, N. A. (2005). RNA interference against human papillomavirus oncogenes in cervical cancer cells results in increased sensitivity to cisplatin. *Molecular pharmacology*, 68(5), 1311-1319.
- Rieck, T., Feig, M., Wichmann, O., & Siedler, A. (2017). Impfquoten der Rotavirus-, Masern-, HPV-und Influenza-Impfung in Deutschland.
- Schiffman, M., Castle, P. E., Jeronimo, J., Rodriguez, A. C., & Wacholder, S. (2007). Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, 370(9590), 890-907.
- Scholefield, J., Castle, M., & Watson, N. (2005). Malignant transformation of high - grade anal intraepithelial neoplasia. *British journal of surgery*, 92(9), 1133-1136.
- Scholefield, J., Ogunbiyi, O., Smith, J., Rogers, K., & Sharp, F. (1994). Treatment of anal intraepithelial neoplasia. *British journal of surgery*, 81(8), 1238-1240.
- Sen, R., Shah, N., Sheikh, M. A., & Chatterjee, R. P. (2018). Oral condyloma acuminatum in a 75-year-old geriatric patient. *BMJ case reports*, 2018, bcr-2017-222905.
- Silvera, R. J., Smith, C. K., Swedish, K. A., & Goldstone, S. E. (2014). Anal condyloma treatment and recurrence in HIV-negative men who have sex with men. *Diseases of the Colon & Rectum*, 57(6), 752-761.
- Silverberg, M. J., Lau, B., Justice, A. C., Engels, E., Gill, M. J., Goedert, J. J., . . . Brooks, J. T. (2012). Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clinical infectious diseases*, 54(7), 1026-1034.
- Singh, J. C., Kuohung, V., & Palefsky, J. M. (2009). Efficacy of trichloroacetic acid in the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 52(4), 474.
- Smith, H. O., Tiffany, M. F., Qualls, C. R., & Key, C. R. (2000). The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States—a 24-year population-based study. *Gynecologic oncology*, 78(2), 97-105.
- Sonnex, C., Strauss, S., & Gray, J. (1999). Detection of human papillomavirus DNA on the fingers of patients with genital warts. *Sexually transmitted infections*, 75(5), 317-319.
- Srodon, M., Stoler, M. H., Baber, G. B., & Kurman, R. J. (2006). The distribution of low and high-risk HPV types in vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia (VIN and VaIN). *The American journal of surgical pathology*, 30(12), 1513-1518.
- Stanley, M. (2010). Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecologic oncology*, 117(2), S5-S10.

- Strauss, S., Sastry, P., Sonnex, C., Edwards, S., & Gray, J. (2002). Contamination of environmental surfaces by genital human papillomaviruses. *Sexually transmitted infections*, 78(2), 135-138.
- Tanaka, T. I., & Alawi, F. (2018). Human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *Dental Clinics*, 62(1), 111-120.
- Tatti, S., Swinehart, J. M., Thielert, C., Tawfik, H., Mescheder, A., & Beutner, K. R. (2008). Sinecatechins, a defined green tea extract, in the treatment of external anogenital warts: a randomized controlled trial. *Obstetrics & Gynecology*, 111(6), 1371-1379.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet - Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(2), 87-108.
- Tota, J. E., Chevarie-Davis, M., Richardson, L. A., & Franco, E. L. (2011). Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: implications for prevention strategies. *Preventive medicine*, 53, S12-S21.
- Trottier, H., & Franco, E. L. (2006). The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*, 24, S4-S15.
- Uribarren-Berrueta, O., Sánchez-Corona, J., Montoya-Fuentes, H., Trujillo-Hernández, B., & Vásquez, C. (2012). Presence of HPV DNA in placenta and cervix of pregnant Mexican women. *Archives of gynecology and obstetrics*, 285(1), 55-60.
- Varma, S., Lathrop, E., & Haddad, L. B. (2013). Pediatric condyloma acuminata. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 26(6), e121-e122.
- Viens, L. J. (2016). Human papillomavirus-associated cancers—United States, 2008–2012. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 65.
- Villa, L., Costa, R., Petta, C., Andrade, R., Paavonen, J., Iversen, O., . . . Riis-Johannessen, G. (2006). High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *British journal of cancer*, 95(11), 1459.
- Villain, P., Gonzalez, P., Almonte, M., Franceschi, S., Dillner, J., Anttila, A., . . . Herrero, R. (2015). European code against cancer 4th edition: infections and cancer. *Cancer epidemiology*, 39, S120-S138.
- Walboomers, J. M., Jacobs, M. V., Manos, M. M., Bosch, F. X., Kummer, J. A., Shah, K. V., . . . Muñoz, N. (1999). Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of pathology*, 189(1), 12-19.
- Wang, H., & Qiao, Y. (2008). Human papillomavirus type-distribution in condylomata acuminata of mainland China: a meta-analysis. *International journal of STD & AIDS*, 19(10), 680-684.
- Watson, A. J., Smith, B. B., Whitehead, M. R., Sykes, P. H., & Frizelle, F. A. (2006). MALIGNANT PROGRESSION OF ANAL INTRA - EPITHELIAL NEOPLASIA. *ANZ journal of surgery*, 76(8), 715-717.
- Wechsler, E. I., Tugizov, S., Herrera, R., Da Costa, M., & Palefsky, J. M. (2018). E5 can be expressed in anal cancer and leads to epidermal growth factor receptor-induced invasion in a human papillomavirus 16-transformed anal epithelial cell line. *Journal of General Virology*.
- Wheeler, C. M., Hunt, W. C., Cuzick, J., Langsfeld, E., Pearse, A., Montoya, G. D., . . . Castle, P. E. (2013). A population - based study of human papillomavirus genotype prevalence in the United States: Baseline measures prior to mass human papillomavirus vaccination. *International Journal of Cancer*, 132(1), 198-207.
- Wieland, U., & Kreuter, A. (2015). HPV-induzierte anale Läsionen HPV-induced anal lesions. *Der Hautarzt*, 66(6), 439-445.
- Wieland, U., & Kreuter, A. (2017). Kondylome bei HIV-Infizierten. *Der Hautarzt*, 68(3), 192-198.

- Wikström, A., Hedblad, M. A., & Syrjänen, S. (2012). Penile intraepithelial neoplasia: histopathological evaluation, HPV typing, clinical presentation and treatment. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 26(3), 325-330.
- Xi, L. F., Critchlow, C. W., Wheeler, C. M., Koutsky, L. A., Galloway, D. A., Kuypers, J., . . . Goldbaum, G. (1998). Risk of anal carcinoma in situ in relation to human papillomavirus type 16 variants. *Cancer research*, 58(17), 3839-3844.
- Zheng, Z.-M., & Baker, C. C. (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 11, 2286.
- Zur Hausen, H. (1976). Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer research*, 36(2 Part 2), 794-794.

## 10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich den beteiligten Personen meinen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation so zuverlässig und kontinuierlich unterstützt haben.

Erstrangig möchte ich mich bei meinem Betreuer und Doktorvater Herrn PD Dr. Markus Reinholz für die hervorragende Hilfestellung und seine enorme Unterstützung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit bedanken.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern der Histologie und Immunambulanz für Ihre herzliche Aufnahme in das Team. Besonderer Dank gilt Herrn Harasser für die Hilfe bei der Anfertigung der Gewebeschnitte in der Histologie und Frau Puchta für die Unterweisung und Hilfestellung bei den molekulargenetischen Untersuchungsverfahren.

## 11 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere eidesstattlich, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation mit dem Titel **„Risikoanalyse und Häufigkeitsbestimmung der HPV-Subtypen in Zellabstrichen und Gewebeproben von Hauttumoren bei immunsupprimierten Patienten“** selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit einschließlich Tabellen und Abbildungen, die anderen Werken im Wortlaut oder Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat. Zudem weise ich darauf hin, dass die Daten aus meiner Dissertation in einem international peer-reviewten Journal publiziert worden sind. Die Bestimmungen der Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. Flaig und PD Dr. Reinholz betreut worden.

Ort/Datum: München, den 05.03.2024    Unterschrift: Bruno Hundsdörfer