Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr.h.c. mult. A.Hofstetter
Jetziger Direktor: Prof. Dr. med. Ch. Stief

HPV-Infektionen der männlichen Urethra

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

vorgelegt von
Carolin Bouveret
aus
Würzburg

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. P. Schneede
	_____
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. U. Koszinowski
	Prof. Dr. A. Wollenberg
Mitbetreuung durch den Promovierten Mitarbeiter:	
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	03.05.2007

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	**Einleitung und Fragestellung**	1
2	**Material und Methoden**	8
2.1	**Retrospektive aktengestützte Datenerhebung**	8
2.1.1	Patientenkollektiv I	8
2.1.1.1	Patientenmerkmale	8
2.1.1.2	Klinische Untersuchung	10
2.1.2	Patientenkollektiv II	11
2.1.2.1	Patientenmerkmale	11
2.1.2.2	Klinische Untersuchung	13
2.1.2.3	Laserbehandlung	13
2.1.2.4	Kontrolluntersuchungen	14
2.1.2.5	Partneruntersuchungen	15
2.1.3	Patientenkollektiv III	15
2.1.3.1	Patientenmerkmale	15
2.1.3.2	Externe zwischenzeitliche Behandlung	16
2.1.3.3	Klinische Untersuchung	17
2.1.3.4	Probengewinnung	17
2.1.3.5	HPV-Laboranalyse	18
2.1.3.6	Laserbehandlung	19
2.2	**Prospektiver Teil der Datenerhebung**	20
2.2.1	Patientenkollektiv IV	20
2.2.1.1	Patientenmerkmale	20
2.2.1.2	Probengewinnung	21
2.2.1.3	Ablauf des Testverfahrens Viroaktiv	21
2.3	**Datenanalyse und statistische Methoden**	23
3	**Ergebnisse**	24
3.1	**Patientenkollektiv I**	24
3.2	**Patientenkollektiv II**	29
3.3	**Patientenkollektiv III**	38
3.4	**Patientenkollektiv IV**	47
4	**Diskussion**	52
5	**Zusammenfassung**	73
6	**Literaturverzeichnis**	76

Seite

7 Abkürzungen 90

8 Danksagung 91

9 Lebenslauf 92

1 Einleitung

Condylomata acuminata sind die wohl bekannteste klinisch sichtbare Manifestationsform von Infektionen mit humanen Papillomaviren und sind seit der Antike als Krankheitsbild bekannt. Obwohl lange Zeit Viren als Ursache vermutet wurden, gelang es erst Ende der 60er Jahre über Elektronenmikroskopie [29] und schließlich Mitte der 70er Jahre über molekularbiologische Untersuchungen, humane Papillomviren als Erreger zu identifizieren [38, 80].

Bei den humanen Papillomaviren handelt es sich um ein phylogenetisch sehr altes Virus, welches sich im Laufe der Evolution in hohem Maße auf den Menschen spezialisiert hat [18, 111]. Humane Papillomviruspartikel haben eine kugelige Gestalt, mit einem Durchmesser von 50-55 nm. Die Proteinhülle, das Kapsid, besteht aus zwei unterschiedlich großen Strukturproteinen und ist nach dem Symmetrieprinzip des Ikosaeders aufgebaut. Innerhalb des Kapsids befindet sich die ringförmige DNA Doppelhelix mit einer Länge von ca. 8000 Basenpaaren [10, 83].

Die Übertragung des humanen Papillomavirus erfolgt überwiegend durch sexuellen Kontakt, wobei postkoitale Mikroverletzungen als Eintrittspforten der Viruspartikel angesehen werden. Daneben kommen auch unbelebte Vektoren (Untersuchungsgeräte, Unterwäsche), die mit virushaltigen Hornschüppchen behaftet sind, als Infektionsquelle in Betracht. Inwiefern eine HPV Infektion auf diese Weise wirklich übertragen werden kann, ist bislang noch nicht geklärt [32]. Des Weiteren können mit anogenitalen Warzen infizierte Mütter bei der Entbindung humane Papillomaviren auf ihr Kind übertragen. Eine seltene Folge davon ist die neonatale Larynxpapillomatose. Ebenso deuten Hinweise auf eine mögliche vertikale (intrauterine) Übertragung von HPV hin [109].

Nach Eindringen des Viruspartikels kommt es zu einer Infektion der Basalzellschicht des Oberflächenepithels, was zu klinisch sichtbaren Veränderungen, zu subklinischen und zu latenten Infektionen führen kann.

Die Inkubationszeit beträgt mehrere Wochen bis Monate, wenn Läsionen entstehen, dann meistens 3 Monate nach Infektion. Allerdings haben Studien gezeigt, dass die Zeit der viralen Latenz bisher unterschätzt wurde und dass auch noch Jahre nach Infektion klinische Läsionen entstehen können.

Neben der hohen Wirtsspezifität sind humane Papillomaviren dadurch gekennzeichnet, dass sie ausschließlich Epithelzellen der Haut und Schleimhaut infizieren. Dabei unterscheiden sich die verschiedenen HPV Genotypen in ihrer Affinität zu verhornenden und nicht verhornenden Plattenepithelien der unterschiedlichen Körperregionen, so dass eine Einteilung in zwei Gruppen erfolgt: HPV-Typen, die bevorzugt Epithelzellen von Schleimhäuten (Anogenitalbereich, Mundhöhle, Respirationstrakt) befallen, werden als Mukosa-HPV-Typen bezeichnet, solche, die Epithelzellen der äußeren Haut befallen, als Kutane-HPV-Typen [10].

Insgesamt sind über 80 verschiedene HPV-Genotypen bekannt [54], von denen mehr als 30 zu Infektionen im Genitalbereich führen können. Als so genannte Low-Risk Typen werden HPV-Genotypen angesehen, die überwiegend in benignen Epithelveränderungen nachgewiesen werden und keine Assoziation zu Präkanzerosen und Karzinomen haben. Prototypen dieser Low-Risk Typen sind die HPV-Genotypen 6 und 11, die in über 90% aller Condylomata acuminata nachzuweisen sind [83]. HPV-Genotypen, die mit Präkanzerosen oder Karzinomen assoziiert sind, werden als High-Risk Typen bezeichnet. Hier sind insbesondere die HPV-Genotypen 16 und 18 zu nennen, die bereits offiziell als Karzinogene anerkannt wurden [116].

Aussagen über die Inzidenz und Prävalenz von HPV-Infektionen sind begrenzt verfügbar, da ein großer Teil der Infektionen subklinisch oder latent verläuft. Diese Infektionen entzogen sich lange Zeit einer Diagnose und konnten erst durch die in letzter Zeit entwickelten, sensitiven HPV-DNA Nachweisverfahren diagnostiziert werden. Des Weiteren existiert für HPV-Infektionen, im Vergleich zu anderen sexuell übertragbaren Erkrankungen, keine Meldepflicht, so dass zentrale epidemiologische Datenbanken nicht existieren [54].

Heute gelten humane Papillomaviren als die häufigsten Erreger von sexuell übertragbaren viralen Erkrankungen [33, 118]. Untersuchungen an der sexuell aktiven Bevölkerung der USA konnten nachweisen, dass ca. 1% der Bevölkerung zwischen 15-49 Jahren an genitalen Kondylomen erkrankt ist. Subklinische HPV-Infektionen sollen bei 4% der geschlechtsaktiven Bevölkerung vorkommen und bei ca. 10% der Bevölkerung werden latenten HPV-Infektionen vermutet. Angaben über die Prävalenz von HPV-Antikörper positiven Personen, belaufen sich auf 60% der Bevölkerung [54]. Das Risiko in seinem Leben eine HPV-Infektion zu erlangen, wird in einer epidemiologischen Studie auf 79% geschätzt [107]. Aufgrund der in epidemiologischen Studien nachgewiesenen hohen Durchseuchung der geschlechtsaktiven Bevölkerung [54], muss mit einem weiteren Anstieg HPV assoziierter Erkrankungen gerechnet werden. Diese Vermutung wird durch eine Studie gestützt, die für den Zeitraum von 1950-1978 einen achtfachen Anstieg der Erkrankungsinzidenz an Condylomata acuminata fand [19].

Ein zunehmend größerer Stellenwert kommt den HPV-assoziierten Hauterkrankungen durch die Tatsache zu, dass humane Papillomaviren aus Präkanzerosen und Karzinomen der Cervix uteri, der Vulva, des Penis und der Analregion isoliert wurden [24, 121, 122]. HPV wird in 99,7% der Cervixcarcinome nachgewiesen, so dass der Kausalzusammenhang zwischen HPV und dem Cervix-Carcinom, welches das zweithäufigste Karzinom der Frau darstellt, heute als bewiesen gilt [115]. Ferner konnte eine hohe Korrelation zwischen dem Nachweis von onkogenen HPV-Viren beim Mann und dem Auftreten von cervikalen intraepithelialen Neoplasien bei ihren Partnerinnen festgestellt werden [7, 65]. Insbesondere die in subklinischen urethralen HPV-Effloreszenzen nachgewiesenen Typen 18, 31, 52 und 58 [97], sind bekanntermaßen mit intraepithelialen Neoplasien und Cervix-Carcinomen assoziiert [32, 115]. Urethrale HPV-Infektionen des Mannes stellen somit ein Reservoir für Partnerinfektionen dar, indem HPV-infizierte Epithelzellen während der Ejakulation exfoliiert und übertragen werden [58, 81].

Inwieweit urethrale HPV-Infektionen beim Mann zur Entwicklung von intraepithelialen Neoplasien führen ist noch nicht geklärt. In Einzelfallbeschreibungen wurde über den Nachweis von HPV-DNA in urethralen

Karzinomen berichtet [117]. Insgesamt gesehen, kommen urethrale Karzinome beim Mann sehr selten vor und sind des Weiteren meist in der proximalen Urethra lokalisiert, so dass ein kausaler Zusammenhang mit einer urethralen HPV-Infektion, zum heutigen Zeitpunkt als nicht bewiesen angesehen werden kann [98].

Des Weiteren sind urethrale HPV-Infektionen als Ausgangspunkt für eine Kontamination der männlichen Keimbahn zu sehen. Dies belegen Studien, die HPV-DNA in Spermien [60], Seminalflüssigkeit [61] und im Vas deferens [84] nachweisen konnten. Darüber hinaus wurde bei HPV-infizierten Männern vermehrt eine Asthenozoospermie nachgewiesen, so dass ein Einfluss einer HPV-Infektion auf die Spermienmotilität vermutet wird [61].

Für den Patienten stehen im Rahmen einer urethralen HPV-Infektion meist die durch klinische HPV-Effloreszenzen hervorgerufenen Beschwerden im Vordergrund. Hier sind, durch das lokale Wachstum in der Urethra bedingt, insbesondere erhebliche Miktionsstörungen zu nennen [97]. Des Weiteren ist die hohe Rezidivfreudigkeit urethraler HPV-Effloreszenzen oft mit einer erheblichen psychischen Belastung des Patienten verbunden.

Wie auch im Bereich des äußeren Genitales können HPV-Infektionen der Urethra als klinische, subklinische und latente Infektionen vorliegen. Unter klinischen HPV-Effloreszenzen versteht man sichtbare Veränderungen von Haut- und Schleimhäuten, die ohne Verwendung von Hilfsmitteln diagnostiziert werden können. Im Bereich der Urethra unterteilt man klinische HPV-Effloreszenzen in Condylomata acuminata, papulöse und makulöse Effloreszenzen. Des Weiteren sind klinische Manifestationsformen im Sinne von Leukoplakie-artigen oder erythematösen Arealen beschrieben [42]. Subklinische Infektionen können im Bereich des äußeren Genitales und des Meatus durch Markierung mit z.B. 5% Essigsäure und anschließenden optischen Vergrößerungstechniken (Lupe) oder durch mikroskopische Verfahren nachgewiesen werden. Im Bereich der übrigen Urethra entzogen sich subklinische HPV-Infektionen, bis zur Entwicklung der floureszenzgestützten Urethroskopie, nach intraurethraler Instillation von 5-Amino-lävulinsäure einer optischen Diagnostik [98]. Latente HPV-Infektionen der Urethra

sind weder klinisch, noch durch zytologische oder histologische Untersuchungen zu erkennen. Aufgrund der fehlenden morphologischen Zellveränderungen, werden sie einzig durch den labortechnischen Nachweis von HPV-DNA diagnostiziert [41].

Im Rahmen der Diagnostik urethraler HPV-Effloreszenzen spielt die klinische Untersuchung des äußeren Genitales mit manueller Meatusspreizung eine große Rolle. Beim Nachweis von HPV-Effloreszenzen im Bereich des Meatus oder der einsehbaren Urethra, wird eine weitere Abklärung durch eine fluoreszenzgestützte Urethroskopie empfohlen [98]. Ein Untersuchungsverfahren, welches als Screeninguntersuchung aktive, infektiöse HPV-Infektionen der Urethra nachweisen kann und die bisher durchgeführte invasive Diagnostik damit ersetzen könnte, wurde bisher nicht gefunden. Zytologische Nachweisverfahren im Urin [65] oder Urethralabstrichen [5, 13, 36] zeichneten sich als Screeningverfahren in der Diagnostik klinischer und subklinischer HPV-Effloreszenzen der Urethra durch eine geringe Spezifität aus. Dies beruht auf der Tatsache dass Koilozyten, welche als Indikatoren einer HPV-Infektion zählen, nur sehr spärlich nachweisbar waren [5, 13]. Bei den nachgewiesenen Veränderungen handelte es sich vielmehr um unspezifische Veränderungen, wie sie im Rahmen unterschiedlichster pathogenetischer Agentien auftreten können [65]. Demgegenüber zeichneten sich Untersuchungen, welche einen HPV-DNA Nachweis im Urin oder in Urethralabstrichen beinhalteten, durch eine vergleichsweise gute Sensitivität aus [27, 34, 51, 71]. Als Screeninguntersuchungen auf aktive klinische und subklinische HPV-Infektionen eignen sie sich dennoch nicht, da auch latente HPV-Infektionen der Urethra vorliegen können [52] und anhand eines positiven HPV-DNA Nachweises keine Unterscheidung zwischen latenter und aktiver HPV-Infektion getroffen werden kann.

Für die Sanierung urethraler klinischer und subklinischer HPV-Effloreszenzen kamen in der Vergangenheit zahlreiche konservative und chirurgische Therapieoptionen zum Einsatz. An konservativen Methoden sind antimitotische (Podophyllin, Podophyllotoxin, 5-Floururacil), kaustische (Trichloressigsäure) und immuntherapeutische (Interferon, BCG) Agentien verwandt worden. Chirurgische Therapien beinhalten Kryotherapie, Exzision, Elektrokoagulation und Laser-

therapie (Nd:YAG Laser, CO_2-Laser). In Abhängigkeit der verwendeten Methode wird dabei über sehr unterschiedliche Sanierungserfolge berichtet.

Als Mittel der Wahl für die Therapie urethraler HPV-Effloreszenzen ist inzwischen der Nd:YAG Laser anzusehen, der insbesondere durch seine endoskopische Einsatzmöglichkeit in der Urethra dem CO_2-Laser überlegen ist [50]. Berichte über den Sanierungserfolg der Lasertherapie von urethralen HPV-Effloreszenzen divergieren stark, da Heilungsraten zwischen 25% [57] und 88% [3] angegeben werden.

Des Weiteren fallen Vergleiche zwischen den bisher durchgeführten Studien zur Sanierung von urethralen HPV-Effloreszenzen durch Lasertherapie schwer, da die Behandlungsparameter im Sinne von Therapieform, Nachbeobachtungszeit-räumen und Rezidiverkennung zum Teil sehr unterschiedlich sind. Neben Studien, die zur Sanierung der Urethra einzig den Nd:YAG Laser verwenden [97, 119], kommen in anderen Studien Kombinationstherapien zwischen Nd:YAG Laser, CO_2-Laser und Elektrokauterisation zum Einsatz [3, 39, 57]. Was die Nachbeobachtungszeiträume angeht, so variieren diese innerhalb der Studien zwischen 2 Wochen [85] und 34 Monaten [57]. Auch in der Rezidiverkennung unterscheiden sich die Studien deutlich, da einige Studien klinische Untersuchungen zur Rezidiverkennung erst bei Vorliegen von Symptomen durchführen [39, 85], während andere über standardisierte Follow-up Untersuchungen verfügen [97, 119].

Angaben über längerfristige Verlaufsbeobachtungen nach Nd:YAG Lasertherapie urethraler HPV-Effloreszenzen finden sich bisher nicht.

Fragestellungen:

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel im Hinblick auf HPV-Infektionen der männlichen Urethra folgende Fragestellungen zu untersuchen:

1. Häufigkeit einer Harnröhrenbeteiligung bei Kondylombefall des äußeren Genitale.

2. Untersuchung der Lokalisation und klinischen Nachweisbarkeit von urethralen Kondylomen.

3. Evaluierung des HPV-Typenspektrums der Urethra und des HPV-Status nach Lasertherapie urethraler HPV-Effloreszenzen bei aussagekräftigem Kontrollintervall.

4. Untersuchung des Testverfahrens Viroaktiv^{TM} an Urinproben unter dem Gesichtspunkt einer Screeninguntersuchung auf klinische und subklinische HPV-Effloreszenzen der Urethra.

2 Material und Methoden

2.1 Retrospektive, aktengestützte Datenerhebung (1988-2002)

Die Bearbeitung der klinischen Fragestellungen erfolgte als retrospektive Datenerhebung und -auswertung. Das Patientengut umfasste ca. 200 Männer, welche sich im Zeitraum von 1988-2002 an der Urologischen Klinik der LMU-München aufgrund von HPV-Effloreszenzen des Genitoanalbereiches in stationärer oder ambulanter Behandlung befanden. Die einzelnen Auswertungen für die verschiedenen Fragestellungen erfolgten an unterschiedlichen Kollektiven aus diesem Patientengut.

2.1.1 Patientenkollektiv I

Zum Nachweis der Häufigkeit einer Harnröhrenbeteiligung bei Kondylombefall des äußeren Genitales erfolgte eine Aktenauswertung von insgesamt 182 Patienten, welche sich im Zeitraum von 1988-2002 an der Urologischen Klinik der LMU München in Behandlung befanden.

2.1.1.1 Patientenmerkmale

Von den 182 Patienten wurde bei 73 Patienten die Diagnose im Rahmen einer Partneruntersuchung bei gynäkologisch nachgewiesener HPV-Erkrankung der Partnerin gestellt. 88 Patienten wurden von verschiedenen niedergelassenen Kollegen und Kliniken zur Therapie von HPV-Effloreszenzen überwiesen. Dabei erfolgte die Überweisung von 56 Patienten durch niedergelassene Urologen, 17 Patienten stellten sich nach Überweisung durch einen Dermatologen vor und 15 Patienten wurden von ihrem Hausarzt geschickt. Weitere 21 Patienten stellten sich selbstständig in der Ambulanzsprechstunde vor, nachdem sie Effloreszenzen im Bereich der Anogenitalregion bemerkt hatten.

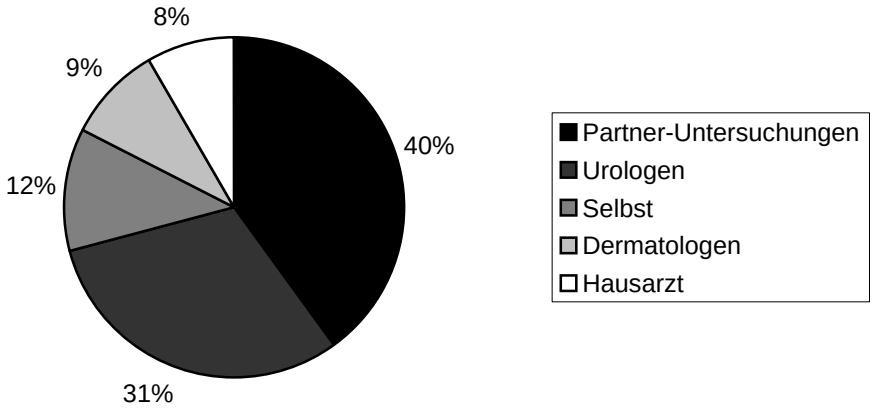

Abbildung 1: Prozentuale Verteilung der Patientenrekrutierung.

Bei 109 Patienten erfolgte die Behandlung im Rahmen einer Primärtherapie. 73 von 182 (40,1%) Patienten wurden bei mehrfach erfolglosen auswärtigen Vorbehandlungen zur Sekundärtherapie überwiesen.

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über Art und Anzahl der durchgeführten Vorbehandlungen.

Durchgeführte Vorbehandlungen	Anzahl behandelter Patienten (n=73)	Anzahl der Anwendungen 1x	2x	3x	4x
1. Medikamentöse Therapien					
Podophyllin (20%)	26	20	4	1	1
Podophyllotoxin (Wartec, Condylox)	15	6	6	3	
Unbekannte Externa	21	16	5		
2. Chirurgische Therapien					
Elektrokoagulation	19	15	4		
Laser	15	11	3	1	
Exzision	14	12	2		
Zirkumzision	3	3			

Tabelle 1: Zur Sekundärtherapie überwiesene Patienten (n=73) nach teilweise mehrfach erfolglosen Vorbehandlungen.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung und Behandlung lag das Alter der Männer zwischen 19 und 71 Jahren (Median 29 Jahre). Sämtliche untersuchte Männer waren heterosexuell.

2.1.1.2 Klinische Untersuchung

Sämtliche klinische Untersuchungen erfolgten nach einem standardisierten Schema. Dabei wurden sowohl die Untersuchungen als auch die anschließenden Laserbehandlungen durch einen erfahrenen, spezialisierten Urologen durchgeführt.

Bei allen Patienten erfolgte zunächst eine gründliche Inspektion des äußeren Anogenitalbereiches auf klinische HPV-Effloreszenzen. Es erfolgte dabei die Dokumentation der klinischen Effloreszenzen in Form von Condylomata acuminata, (pigmentierte) papulöse Effloreszenzen, flachkondylomätöse Effloreszenzen, bowenoide Papulosen sowie Buschke-Löwenstein Tumoren. Zur weiteren Abklärung subklinischer Effloreszenzen sowie fraglicher klinischer Effloreszenzen erfolgte der Essigsäuretest (5% Essigsäure, Applikationsdauer 5 min) unter Verwendung einer Lupenvergrößerung (5fach). Als subklinisch wurde eine Effloreszenz nur unter Berücksichtigung der charakteristischen Merkmale, wie scharfe Begrenzung und Reproduzierbarkeit der Weißreaktion, Gefäßzeichnungen und mosaikartige Oberflächenstruktur sowie Fehlen einer klinischen Entzündungsreaktion bewertet. Erfüllten die hervorgerufenen Weißreaktionen nicht o.g. Kriterien, so wurden sie zunächst als unspezifisch eingestuft. Eine erneute Essigsäuretestung erfolgte dann 2-4 Wochen nach Behandlung mit entzündungshemmenden Externa (Kamille-Penisbäder). Bezüglich des Meatus urethrae externus sowie der Perianalzone, erfolgte ebenfalls eine gründliche Untersuchung. Durch manuelle Meatusspreizung wurde die einsehbare distale Urethra auf klinische Effloreszenzen untersucht. Zur Verhinderung einer iatrogenen Virusaussaat erfolgte erst nach Sanierung der äußerlichen Läsionen eine diagnostische Urethroskopie bzw. Rektoskopie. Auf routinemäßige Urethroskopien wurde ohne Beteiligung des Meatus urethrae

externus sowie der einsehbaren distalen Urethra verzichtet, da proximale Harnröhrenkondylome in diesen Fällen Raritäten darstellen [114].

Sämtliche klinische und subklinische HPV-Effloreszenzen wurden dann unter Berücksichtigung der Anzahl, Morphologie sowie der Lokalisation dokumentiert.

2.1.2 Patientenkollektiv II

Zur Evaluierung der Lokalisation von Kondylomen innerhalb der Harnröhre und der klinischen Nachweisbarkeit durch Inspektion, erfolgte die retrospektive Aktenauswertung an insgesamt 97 Krankheitsfällen von Patienten, welche sich im Zeitraum von 1988-2002 an der Urologischen Klinik der LMU München aufgrund von Harnröhrenkondylomen in Behandlung befanden.

2.1.2.1 Patientenmerkmale

Das Alter der Patienten lag zum Zeitpunkt der Behandlung zwischen 19 und 59 Jahren, das Durchschnittsalter betrug 29 Jahre.

Von den 97 Patienten stellten sich 18 Patienten im Rahmen einer Partneruntersuchung bei ambulant diagnostizierter HPV-Infektion der Partnerin vor. 12 Patienten suchten aufgrund von neu aufgetretenen Beschwerden selbstständig die Ambulanzsprechstunde auf. Die übrigen 67 Patienten wurden durch verschiedene niedergelassene Kollegen in die HPV-Sprechstunde überwiesen. Bei 13 Patienten erfolgte die Überweisung durch einen niedergelassenen Dermatologen, 11 Patienten wurden von ihrem Hausarzt geschickt und 43 Patienten durch einen niedergelassenen Urologen.

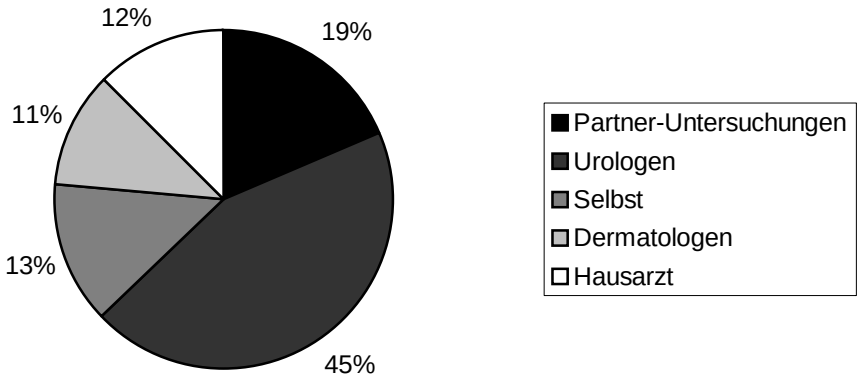

Abbildung 2: Prozentuale Verteilung der Patientenrekrutierung.

Wie in Tabelle 2 dargestellt, wurden bei 50 von 67 Patienten, die durch niedergelassene Kollegen überwiesen wurden, bereits mehrfache, erfolglose ambulante Vorbehandlungen durchgeführt. 17 Patienten wurden von den niedergelassenen Kollegen aufgrund sehr ausgedehnter Lokalbefunde zur Primärtherapie überwiesen. Insgesamt erfolgte bei 47 von 97 Patienten (48,5%) die Therapie im Rahmen einer Primärtherapie. Bei 50 von 97 Patienten (51,5%) wurde die Lasertherapie bei ambulantem Therapieversagen im Rahmen einer Sekundärtherapie durchgeführt.

Durchgeführte Vorbehandlungen	Anzahl der Patienten
1. Medikamentöse Therapien:	42
Podophyllin (20%)	20
Podophyllotoxin (Wartec, Condylox)	10
5-Floururacil (Efudix)	6
Unbekannte Externa	6
2. Chirurgische Therapien:	35
Laser	21
Elektrokoagulation	7
Exzision	6
Ventrale Urethrotomie und Exzision	1

Tabelle 2: Art der ambulanten Vorbehandlungen bei Patienten mit Überweisung zur Sekundärtherapie (n=50).

2.1.2.2 Klinische Untersuchung

Die klinische Untersuchung erfolgte analog der bereits oben beschriebenen Untersuchung.

2.1.2.3 Laserbehandlung

Bei geringem Befall des äußeren Genitales erfolgte die Nd:YAG-Lasertherapie in Lokalanästhesie. Bei ausgedehnten Befunden sowie bei Befall der Urethra oder des Rektums, wurde die Behandlung in Vollnarkose durchgeführt. Bei Kondylomen im Bereich des Meatus urethrae externus erfolgte die Bestrahlung mit einer Ausgangsleistung von 15 Watt des Lasergerätes (Dornier Fibertom 5010), bei endoskopischem Einsatz in der Urethra mit einer Ausgangsleistung von 20 Watt. Die Therapie von Kondylomen im Bereich des Meatus urethrae externus erfolgte mit einem Laserhandstück von außen. Bei distalen Harnröhren-kondylomen, sofern sie durch Meatusspreizung exponierbar waren, konnte durch Einkoppelung des Nd:YAG Laserstrahls in Quarzglasfasern eine Applikation des Strahls bis in die Fossa navicularis erreicht werden. Bei proximalen Harnröhrenkondylomen erfolgte die Laserbehandlung mit einem Urethroskop, evtl. mit einem speziellen Einsatz zur Steuerung der Laserfaser (Laseralberan), unter endoskopischer Sichtkontrolle. Bei ausgedehntem Harnröhrenbefall oder zirkulärem Wachstum der Urethralkondylome wurde ein mehrzeitiges Vorgehen gewählt, um eine iatrogene Strikturbildung der Urethra zu vermeiden. Patienten mit Meatusstrikturen nach Primärbehandlungen wurden durch ein von Schneede et al. 1996 [96] publiziertes Lasermeatotomieverfahren vor anschließender Lasersanierung der Harnröhre in gleicher Sitzung behandelt.

Ab 1995 wurde die Lasertherapie ergänzt durch die Fluoreszenzendoskopie (PDD). Im Gegensatz zur konventionellen Weißlichtendoskopie, konnten durch dieses Verfahren erstmalig auch subklinische Effloreszenzen der Urethra dargestellt und einer Lasertherapie zugeführt werden.

Die Laserbestrahlung der Effloreszenzen erfolgte kontinuierlich (cw-Modus), bis eine Weißfärbung des Epithels (Koagulation) erreicht wurde. Bei großflächigen Läsionen erfolgte zunächst eine zirkuläre Umfahrung der Ränder der Effloreszenz, dann eine zeilenförmige Bestrahlung des Zentrums. Die exakte Führung des unsichtbaren Nd:YAG Laserstrahls (1064 nm) wurde dabei durch einen parallel in den Strahlengang eingekoppelten roten Pilotlaserstrahl (Helium-Neon-Laser, 630 nm) ermöglicht.

Für sämtliche Laserbehandlungen, sowohl im Bereich der Urethra als auch im Bereich des äußeren Genitales, wurde der Nd:YAG Laser gewählt. Im Bereich der Urethra ist dieses Lasersystem zu bevorzugen, da sich der Nd:YAG Laserstrahl ohne wesentliche Leistungseinbußen auch im endoskopischen Einsatz unter Wasserspülung verwenden lässt. Im Bereich des äußeren Genitales kam der Nd:YAG Laser zum Einsatz, da er durch andere Wechselwirkungen mit vitalem Gewebe, im Vergleich zum CO_2-Laser weitere Vorteile bietet. Im Gegensatz zum CO_2-Laser werden Gewebeschwärzungen (Karbonisation) und Gewebsverdampfungen (Evaporisation) vermieden, was zum einen zu größeren Tiefeneffekten des Laserlichts führt, zum anderen eine ungewollte Rauchentwicklung mit HPV-Partikeln vermeidet. Handelte es sich um mehrere Millimeter dicke HPV-Epithelläsionen, so erfolgte eine mechanische Abtragung des koagulierten Gewebes, um verbliebene vitale Tumorreste am Wundgrund zu erkennen und mit geringerer Laserleistung nachbehandeln zu können. Das abgetragene koagulierte Material konnte dann zudem für histologische Untersuchungen oder HPV-Analysen genutzt werden.

Alle durchgeführten Laserbestrahlungen erfolgten unter Einhaltung der gültigen Laserschutzvorschriften.

2.1.2.4 Kontrolluntersuchungen

Klinische Kontrolluntersuchungen nach Lasertherapie erfolgten jeweils im Abstand von 3, 6 und 12 Monaten in gleicher Weise wie bei der beschriebenen Erstuntersuchung. Wurden in diesen Untersuchungen HPV-Effloreszenzen

nachgewiesen, so wurden diese grundsätzlich als Rezidiv klassifiziert, da eine klare Abgrenzung zu einer möglicherweise schon vorher bestehenden, aber unzureichend behandelten Läsion nicht möglich war. Erst bei einem unauffälligen Follow up von 12 Monaten wurde eine erfolgreiche klinische HPV-Sanierung angenommen. Darüber hinaus erfolgten keine weiteren Routineuntersuchungen.

2.1.2.5 Partneruntersuchungen

Im Rahmen der Erstuntersuchung wurden die Männer über die Notwendigkeit einer Untersuchung der Partnerin aufgeklärt und erhielten entsprechende Begleitschreiben, mit der Bitte um HPV-Untersuchung an die behandelnden Gynäkologen. Weiterhin wurde allen Männern bis zur klinischen Sanierung beider Geschlechtspartner der Gebrauch von Kondomen angeraten. Untersuchungsergebnisse der Partnerdiagnostik wurden jedoch nicht in dieser Dissertation ausgewertet.

2.1.3 Patientenkollektiv III

Zur Evaluierung des HPV-Status nach Lasertherapie urethraler HPV-Efflorescenzen, im Langzeit-Follow up und des HPV-Typenspektrums der Urethra, erfolgte eine retrospektive Aktenauswertung an insgesamt 51 der 97 Patienten, die in den Jahren 1988-1999 in der Urologischen Klinik der LMU München, wegen Harnröhrenkondylomen zur Lasertherapie in Behandlung waren und an einer im Jahre 1999 angebotenen Nachuntersuchung teilgenommen hatten.

2.1.3.1 Patientenmerkmale

Zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung lag das Alter der Patienten zwischen 20 und 62 Jahren (Median 31 Jahre). Die Nachuntersuchung erfolgte durchschnittlich 50,7 Monate (Range 1 Monat bis 10,75 Jahre, Median 40 Monate) nach der initialen Lasertherapie in der urologischen Klinik. Die Häufigkeitsverteilung des

Zeitintervalls zwischen der ersten Lasertherapie und der Nachuntersuchung ist in Tabelle 3 dargestellt.

Zeitintervall	Patientenanzahl	
	n (51)	%
< 12 Monate	10	19,6
12-24 Monate	5	9,8
24-36 Monate	9	17,6
36-48 Monate	3	5,9
48-60 Monate	3	5,9
> 60 Monate	21	41,2

Tabelle 3: Follow up-Intervall zwischen initialer Lasertherapie und Nachuntersuchung.

2.1.3.2 Externe zwischenzeitliche Behandlungen

Von den 51 nachuntersuchten Patienten befanden sich insgesamt 6 Patienten nach Abschluss der Kontrolluntersuchungen (3, 6, 12 Monate) an der urologischen Klinik der LMU München wegen Rezidiven urethraler HPV-Effloreszenzen in erneuter Behandlung bei niedergelassenen Kollegen. In Tabelle 4 sind die extern durchgeführten Behandlungen dargestellt.

Durchgeführte Behandlungen	Anzahl behandelter Patienten	Anzahl der Anwendungen 1x	2x	3x	4x
1. Medikamentöse Therapien					
Podophyllin (20%)	1	1			
2. Chirurgische Therapien					
Elektrokoagulation	2	1	1		
Laser	3	2			1
Exzision	1	1			

Tabelle 4: Extern durchgeführte zwischenzeitliche Behandlungen.

2.1.3.3 Klinische Untersuchung

Die Nachuntersuchung der Männer erfolgte analog der bereits oben beschriebenen klinischen HPV-Untersuchung. Zusätzlich wurde durch Floureszenzendoskopie nach topischer Applikation von Deltaaminolävulinsäure die Darstellung subklinischer HPV-Effloreszenzen der Urethra nach einem von Schneede et al. 2001 [98] publizierten Verfahren (Photodynamische Diagnostik) durchgeführt.

2.1.3.4 Probengewinnung

Im Rahmen der durchgeführten Nachuntersuchung wurde zunächst bei jedem Patienten ein Urethralabstrich für Zwecke des HPV-DNA-Nachweises entnommen. Hierzu wurde ein steriler, trockener Wattestieltupfer ca. 1 cm tief in die Urethra eingeführt und um 360° gedreht. Die Tupferspitze wurde dann in einem mit steriler 0,9%iger NaCl Lösung gefülltem, kältebeständigen Gefäß (Nunc, Cryo Tubes, Fa. Nalge Nunc, Rochester, NY, USA) in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

Fanden sich bei der klinischen Untersuchung im Bereich des Meatus urethrae externus oder der einsehbaren distalen Urethra klinische Effloreszenzen oder wurde im Urethralabstrich HPV-DNA nachgewiesen, so erfolgte eine weitere Abklärung durch Urethroskopie einschließlich PDD. Zeigten sich hierbei klinische oder subklinische Areale im Bereich der Urethra, so wurden Gewebeproben der klinischen Areale durch eine Zangenbiopsie entnommen. Die Biopsien wurden in einem kältebeständigem Gefäß (Nunc, Cryo Tubes, Fa. Nalge Nunc, Rochester, NY, USA) in flüssigen Stickstoff schockgefroren.

Wurden im Rahmen der klinischen Untersuchung des äußeren Genitales klinische HPV-Rezidive diagnostiziert, so wurden diese biopsiert. Weiterhin wurde bei jedem Patienten eine Probebiopsie aus einem unauffälligen Kontrollareal im Bereich des inneren Präputialblattes bzw. Präputiumrestes nach Zirkumzision entnommen. Nach Desinfizieren und sterilem Abdecken des Biopsieareales erfolgte die sterile Unterspritzung mit 1%iger Xylocain Lösung. Mit jeweils einer

separaten, sterilen Einweghautstanze (Stiefel Biopsie Punch; ∅ 3-4 mm) erfolgte dann die Entnahme der Hautprobe. Blutstillung und Wundverschluss erfolgten, sofern erforderlich, mit selbstresorbierbarem Nahtgut (Vicryl Rapid 4.0). Die entnommene Probebiopsie wurde senkrecht zur Hautoberfläche geteilt. Zur Vermeidung einer Probenkontamination wurden für jede einzelne Biopsie separate sterile Hautstanzen, Pinzetten, sowie Skalpelle zum Zerteilen der Proben verwendet. Jede Biopsiehälfte wurde in einem separaten kältebeständigem Gefäß (Nunc Cryo Tubes; Fa.Nalge Nunc, Rochester, NY, USA) in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Die eine Biopsiehälfte wurde zur histologischen Untersuchung vorgesehen. Die andere Biopsiehälfte sowie sämtliche andere entnommenen Proben, wurden nach Lagerung bei -80° C auf Trockeneis an ein HPV Referenzlabor in Hamburg geschickt.

2.1.3.5 HPV-Laboranalyse

Die entnommenen Proben zur Bestimmung der HPV-Typen des äußeren Genitales und der Urethra wurden in einem HPV-Referenzlabor untersucht.

Durch Proteindenaturierung mittels SDS (Natrium Dodecyl Sulfat; Fa. Serva, Heidelberg) und Proteinase K (Fa. Boehringer, Mannheim) erfolgte die Freisetzung der DNA aus dem Probenmaterial. Die Isolierung der DNA erfolgte durch Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion und Ethanolfällung. Durch PCR und nested-PCR Verfahren, mit denen äußerst sensitiv vorhandene HPV-DNA nachgewiesen werden kann, erfolgte anschließend die Virus-genomamplifizierung. Zur Amplifikation der HPV-DNA wurden dabei unter-schiedliche Primer verwendet. Der Nachweis genitaler HPV-DNA erfolgte mit den Primern MY9 und MY11. Es handelt sich hierbei um ein degeneriertes Konsensus Primer System, welches im Jahr 1989 von Manos et al. [66] erstmals beschrieben wurde. Im Gegensatz zu typenspezifischen Primern ist durch Konsensus Primer Systeme die Amplifikation eines sehr großen Spektrums an HPV-Genotypen und damit auch die Entdeckung neuer HPV-Typen möglich. Grundlage dafür ist die Amplifikation eines DNA-Segmentes (450 bp) der meist gut erhaltenen und aktiven HPV-L1-Region des Virusgenoms. Im Falle eines negativen Ergebnisses der MY-

PCR erfolgte eine nested PCR mit den Primern MYN 9 und MYN 10. Zur Amplifikation von Epidermodysplasia verruciformis (EV)-assoziierten HPV-Typen wurden die von Berkhout et al. [9] beschriebenen Primer CP65 und CP70 verwendet. Als Primer für die nested-PCR dienten die Primer CP66 und CP69. Ebenso wie bei den MY Primern handelt es sich bei den CP Primern um Primer der HPV-L1-Region. Im Anschluss an die PCR erfolgte der Nachweis vorhandener HPV-DNA durch Elektrophorese und anschließender Ethidiumbromidfärbung.

Die darauf folgende HPV-Typenbestimmung erfolgte mittels RFLP (**R**estriktions**f**ragment**l**ängen**p**olymorphismus)-Analyse und anschließender Hybridisierung mit HPV-genus-spezifischen Sonden nach einem von Meyer et al. [72] publizierten Verfahren, das eine Differenzierung nahezu aller heute bekannter HPV-Genotypen erlaubt.

Die Kompetenz des kooperierenden Labors sowie die Zuverlässigkeit des oben beschriebenen Verfahrens wurden in einer von Nindl et al. [77] durchgeführten multizentrischen Studie 1998 validiert. Des Weiteren erfolgte die HPV-Analyse der Proben in verblindeter Weise.

2.1.3.6 Laserbehandlung

Sofern bei den Patienten erneut klinische und/oder subklinische HPV-Effloreszenzen nachgewiesen wurden, erfolgten die Laserbehandlungen analog der oben beschriebenen Laserbehandlung.

2.2 Prospektiver Teil der Datenerhebung

2.2.1 Patientenkollektiv IV

Zur Evaluierung des HPV-Capsidnachweises im Urin mittels des kommerziell erhältlichen Test Viroaktiv^{TM} (Fa. Virofem) wurden Urinproben von 40 Männer und 6 Frauen untersucht, welche sich im Oktober 2003 an der urologischen oder gynäkologischen Klinik der LMU München in Behandlung befanden.

2.2.1.1 Patientenmerkmale

Untersucht wurden Erststrahlurinproben von 2 männlichen Patienten mit Harnröhrenkondylomen, von 6 männlichen Patienten mit Harnröhrenkondylomen und Kondylomen des äußeren Genitales sowie von 11 männlichen Patienten mit Kondylomen des äußeren Genitales ohne nachgewiesenen Harnröhrenbefall.

Als Kontrollgruppe dienten insgesamt 21 männliche Patienten, die sich aufgrund anderer, nicht HPV assoziierter Erkrankungen im Rahmen der urologischen Poliklinik vorstellten.

Bei den weiblichen Patienten handelte es sich um Patientinnen der Dysplasiesprechstunde der gynäkologischen Klinik der LMU München. Dabei fanden sich bei einer Patientin Kondylome im Bereich der Labien und des Introitus vaginae. Alle übrigen Patientinnen waren nicht an Kondylomen erkrankt.

Zum Untersuchungszeitpunkt lag das Alter der Männer zwischen 21 und 65 Jahren (Median 30,5 Jahre). Das Alter der untersuchten Frauen lag zwischen 25 und 66 Jahren (Median 32 Jahre).

2.2.1.2 Probengewinnung

Als Untersuchungsmaterial dienten Erststrahlurinproben der Patienten mit einem Volumen von 100-200 ml. Zur Aufbereitung des Urins wurden die Proben zunächst bei 2000 U/min über 10 Minuten zentrifugiert. Nach Abkippen des Überstandes erfolgte die Aufschwemmung des Sedimentes mit Methanol als Fixierlösung in einem Verhältnis von 1:1. Eine erneute Zentrifugation bei 2000 U/min über eine Dauer von 5 Minuten fand nach 15-minütiger Inkubation statt. Der Überstand wurde erneut abgekippt, das Sediment unter Zugabe von Pectin Lösung in einem Verhältnis von 1:1 resuspendiert. Im Anschluss wurde die Probenflüssigkeit pro Patient auf zwei Objektträgern ausgestrichen. Die angefertigten Präparate wurden bis zur Weiterverarbeitung bei einer Temperatur von 4-8° C gelagert.

Fixierlösung: Methanol
Pectin-Lösung: 0,2 g Citruspectin, 40 ml Glycerin ad 1000 ml Aqua bidest.

2.2.1.3 Ablauf des Testverfahrens Viroaktiv™

Es erfolgt zunächst die Rehydrierung der Präparate über eine absteigende Alkoholreihe (96%, 70%, 50% Alkohol, Aqua dest., je 2 min). Zur Antigendemaskierung werden die Präparate unter Zugabe von Zitratpuffer (Fa. Dako, Hamburg, Germany) für 2 Minuten bei voller Leistung und für 20 Minuten bei halber Leistung in einer Mikrowelle erhitzt.

Zur Immunfärbung erfolgt nach Abkühlen und 5-minütiger Behandlung in einem Waschpuffer die Benetzung der Präparate mit Blocking Reagenz. Nach 5-minütiger Inkubation erfolgt die Applikation des L1-Kapsid-Antikörpers (Fa. Virofem, Wiesbaden, Germany) sowie eine erneute Inkubation über 30 Minuten bei Raumtemperatur. Nach Entfernung der überschüssigen Antikörper mit Waschpuffer, werden die am Antigen gebundenen Antikörper mit einem Detektionssystem (PicTure™ Plus Detection System (Peroxidase), Fa. Zymed, Laboratories, Inc., Californien, USA) und einer Niederschlagsfärbung sichtbar gemacht. Hierzu wird Nachweis-Reagenz auf die Präparate appliziert und für 30

Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Überschüssiges Nachweis-Reagenz wird durch 5-minütiges Waschen in Waschpuffer entfernt. Zur Färbung werden 50 µl Chromogen Lösung appliziert. Nach 10-minütiger Inkubation wird die Farbreaktion mit Aqua dest. gestoppt. Nach Gegenfärbung für 10-20 sek. mit Hämatoxilin werden die Präparate in ein wässriges Eindeckmedium (Aquatex, Fa. Merck, Darmstadt) gegeben und mikroskopisch ausgewertet. Ein Präparat wird als positiv bewertet, wenn sich eine rote Anfärbung des Zellkerns zeigt (siehe Abbildung 3).

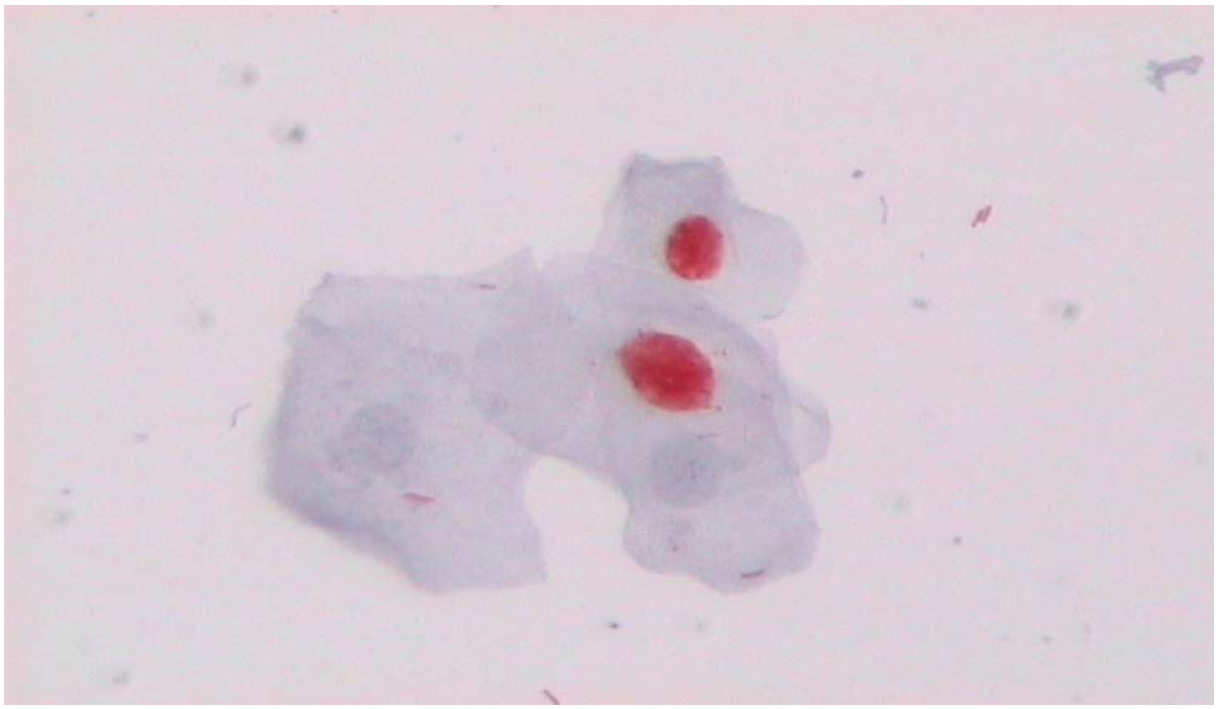

Abbildung 3: Intranukleäre Anfärbung.

Waschpuffer: PBS mit 0,05% Tween 20
Blocking-Reagenz: PBS/0,05% Tween 20 mit 10% FCS (fötales Kälberserum)
L1-Kapsid-Antikörper: Viroaktiv™ Screening-Antikörper S33, Fa. Virofem, Wiesbaden, Germany
Detektionssystem: PicTure™ Plus Detection System (Peroxidase), Fa. Zymed, Laboratories, Inc., Californien, USA
Nachweis-Reagenz: HRP/F_{ab} Polymerkonjugat
Chromogen: AEC (3-amino-9-ethyl-carbazole).

2.3 Datenanalyse und statistische Methoden

Die Datenerhebung erfolgte anhand von Patientendokumentationsbögen. Nach Überprüfung der Patientendokumentationsbögen auf Vollständigkeit und Plausibilität wurden die Daten in einer Datenbank auf der Basis von Microsoft Excel 2000 erfasst.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels der Standardsoftware SPSS für Windows (Version11,5) sowie alternativ mittels SAS Version 8. Zum Vergleich und zur Bewertung von Unterschieden zweier Patientengruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Die Prüfung von Unterschieden bei Häufigkeitsdaten erfolgte mittels Chi^2 Test und Fisher-Yates-Test. Zum Vergleich von Prävalenzraten von Binärdaten wurde der Mc Nemar Test eingesetzt. Als Verfahren zur Analyse von Latenzen eines Ereignisses (Rezidiv) wurde die Methode nach Kaplan und Meier verwendet. Als signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit <5% ($p<0,05$) gewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv I

3.1.1 Alter und Vorbehandlung

182 Männer im Alter zwischen 19 und 71 Jahren (Median 29 Jahre) stellten sich im Rahmen der HPV-Sprechstunde zur Lasertherapie von HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales vor. Insgesamt 73 Patienten (40,1%) waren vor der Lasertherapie in der Urologischen Klinik extern bereits 1-4 mal erfolglos wegen HPV-Effloreszenzen des Genitales vorbehandelt worden (siehe Tabelle 1). 109 Patienten (59,9%) kamen zur Primärtherapie.

3.1.2 Klinischer Befund

Von den 182 Patienten fanden sich bei 107 Patienten ausschließlich klinische HPV-Effloreszenzen am äußeren Genitoanalbereich. Bei 52 Patienten fanden sich neben den klinischen Effloreszenzen auch subklinische Effloreszenzen. 23 Patienten hatten ausschließlich subklinische Effloreszenzen.

Insgesamt fanden sich bei 159 Männern klinische HPV-Effloreszenzen im äußeren Genitoanalbereich. Überwiegend handelte es sich dabei um Condylomata acuminata (155 von 159 Pat). Bei 2 Patienten mit klinischen Effloreszenzen konnten histologisch Veränderungen im Sinne einer bowenoiden Papulose nachgewiesen werden. In den 2 anderen Fällen handelte es sich um Buschke-Löwenstein Tumoren. Subklinische, essigsäurepositive Effloreszenzen fanden sich bei insgesamt 75 der untersuchten 182 Patienten.

Neben den bestehenden äußeren HPV-Effloreszenzen konnten zudem klinische HPV-Effloreszenzen im Bereich der Urethra bei 53 Patienten nachgewiesen werden.

3.1.3 Lokalisation der HPV-Effloreszenzen

Die HPV-Effloreszenzen zeigten eine multilokuläre Verteilung, allerdings zeigten klinische und subklinische HPV-Effloreszenzen unterschiedliche Prädilektionsstellen. Hinsichtlich der Lokalisationen klinischer HPV-Effloreszenzen herrschen Präputium und Präputiumrest mit einer Prävalenz von 49% deutlich vor. Signifikant geringer sind die Auftretensraten an der Glans (19%, p<0,001, Mc Nemar), an der Urethra (29%, p< 0,001, Mc Nemar), peri- bzw intraanal (14%, p<0,001, Mc Nemar) und am Skrotum (4%, p<0,001, Mc Nemar). Was das Auftreten klinischer HPV-Effloreszenzen im Bereich des Penisschaftes betrifft, zeigte sich im Vergleich zum Präputium und Präputiumrest kein statistisch signifikanter Unterschied (42%, p=0,21, Mc Nemar), so dass der Penisschaft ebenfalls eine prävalente Lokalisation klinischer HPV-Effloreszenzen darstellt (Abbildung 4).

Im Bereich des Meatus urethrae externus sowie der Urethra konnten bei insgesamt 53 Patienten (29%) klinische HPV-Effloreszenzen nachgewiesen werden.

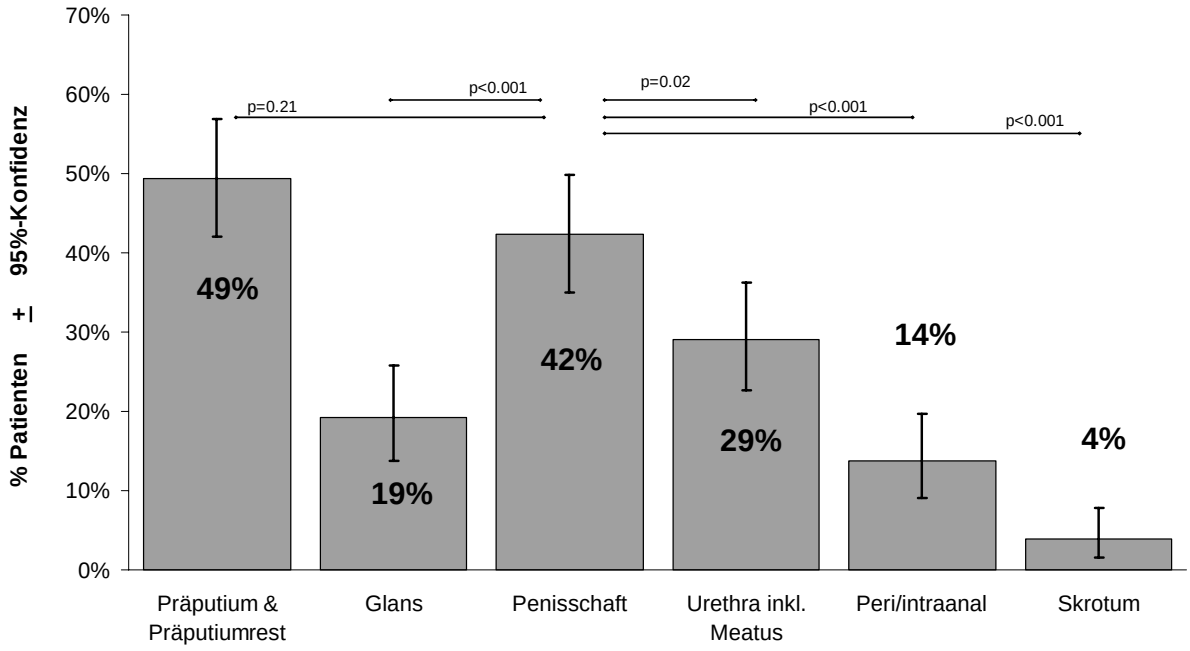

Abbildung 4: Überblick über die Häufigkeitsverteilung klinischer Effloreszenzen bei 182 Patienten. (Unterschiede zum Penisschaft, statistischer Test: McNemar-Test, p-Werte $\leq$ 0.05 weisen auf einen explorativ signifikanten Unterschied der Lokalisationsprävalenz hin.)

Subklinische Effloreszenzen lokalisieren sich im Bereich des Präputiums oder des Präputiumrestes mit 34% statistisch signifikant häufiger (p<0,001; Mc Nemar Test) als an der Glans (12%). Mit nur 7% und damit am geringsten ist der Penisschaft betroffen.

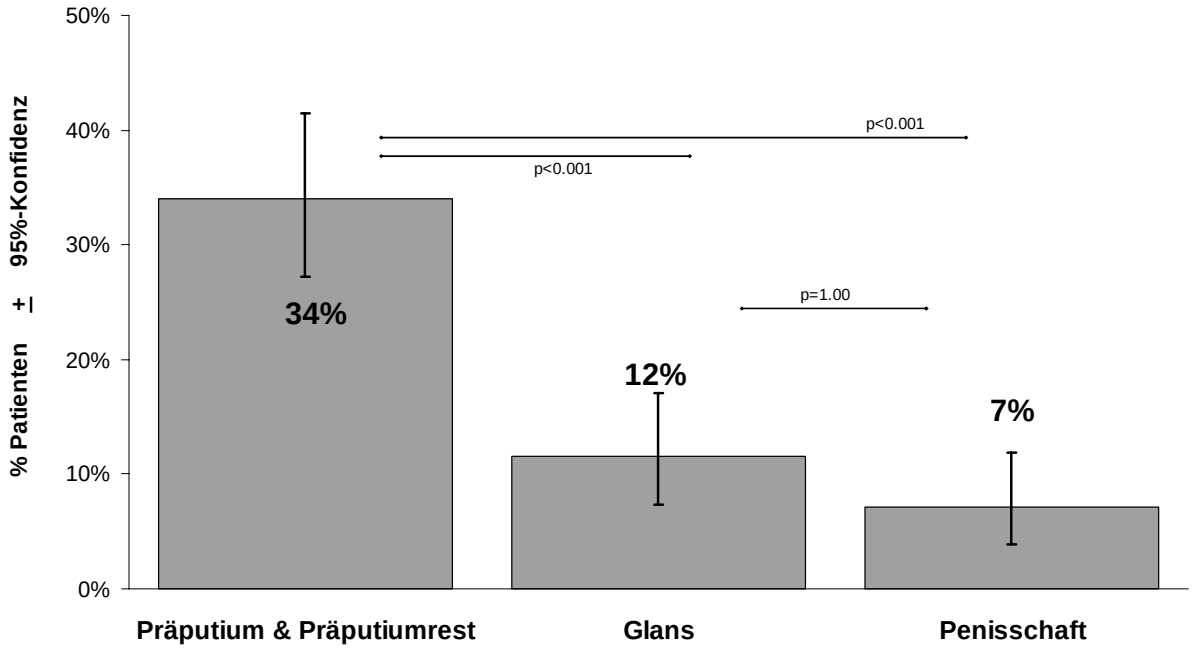

Abbildung 5: Prävalenz subklinischer Effloreszenzen bei 182 Patienten. Statistisch exakter Test nach McNemar. (Test für Messwiederholungen bei Binärdaten, p-Werte < 0.05 weisen auf einen explorativ signifikanten Unterschied hin.)

3.1.4 Urethrale Kondylome und Zirkumzisionsstatus

Von den 182 untersuchten Patienten waren 143 Patienten vor der Erstbehandlung in der Urologischen Klinik nicht zirkumzidiert. Bei 39 Patienten wurde bereits vor Behandlungsbeginn eine Zirkumzision durchgeführt. Dabei waren zirkumzidierte sowie nicht zirkumzidierte Patienten von klinischen HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales annähernd gleich häufig betroffen [36 von 39 (92,3%) versus 127 von 143 (88,8%)]. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den zirkumzidierten Männern deutlich weniger subklinische HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales [11/39 (28,2%) versus 64/143 (44,8%)] als in der Gruppe der nicht zirkumzidierten Männer.

Bezüglich der Lokalisationen der klinischen HPV-Effloreszenzen zeigten sich in Abhängigkeit vom Zirkumzisionsstatus deutliche Unterschiede, wie Abbildung 5 wiedergibt.

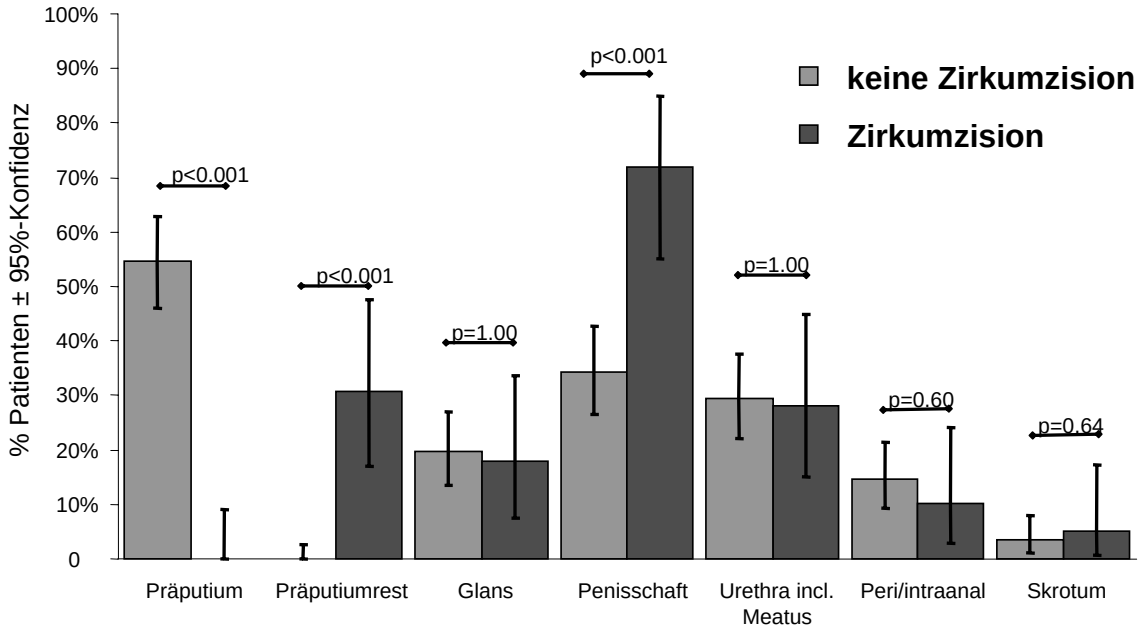

Abbildung 6: Vergleich der Häufigkeit von klinischen Effloreszenzen bei Patienten mit und ohne Zirkumzision. Statistischer Test: Fisher-Test (zweiseitig).

Bei zirkumzidierten Männern fanden sich klinische HPV-Effloreszenzen signifikant am häufigsten (72% versus 34% bei Nicht-Zirkumzidierten, $p<0.001$) im Bereich des Penisschaftes. Eine Prüfung der auffallend hohen Prävalenz klinischer Effloreszenzen am Penisschaft bei Patienten mit Zirkumzision zeigt, dass alle übrigen Lokalisationen signifikant seltener betroffen waren ($p<0.05$, alle Vergleiche mittels exaktem McNemar-Test).

Im Gegensatz dazu fanden sich in der Gruppe der nicht zirkumzidierten Männer die klinischen HPV-Effloreszenzen signifikant häufiger im Bereich des Präputiums (55% vs. 0%, $p<0.001$).

Bezüglich des Harnröhrenbefalls zeigte sich zwischen den beiden Gruppen in Abhängigkeit vom Zirkumzisionsstatus kein statistisch signifikanter Unterschied ($p=1,00$, Fisher-Test).

In Abhängigkeit vom Zirkumzisionsstatus fanden sich subklinische HPV-Effloreszenzen signifikant häufiger am Präputium (p<0.001) und der Glans (p=0,05), signifikant seltener jedoch am Penisschaft (p=0.04), wie in Abbildung 7 dargestellt.

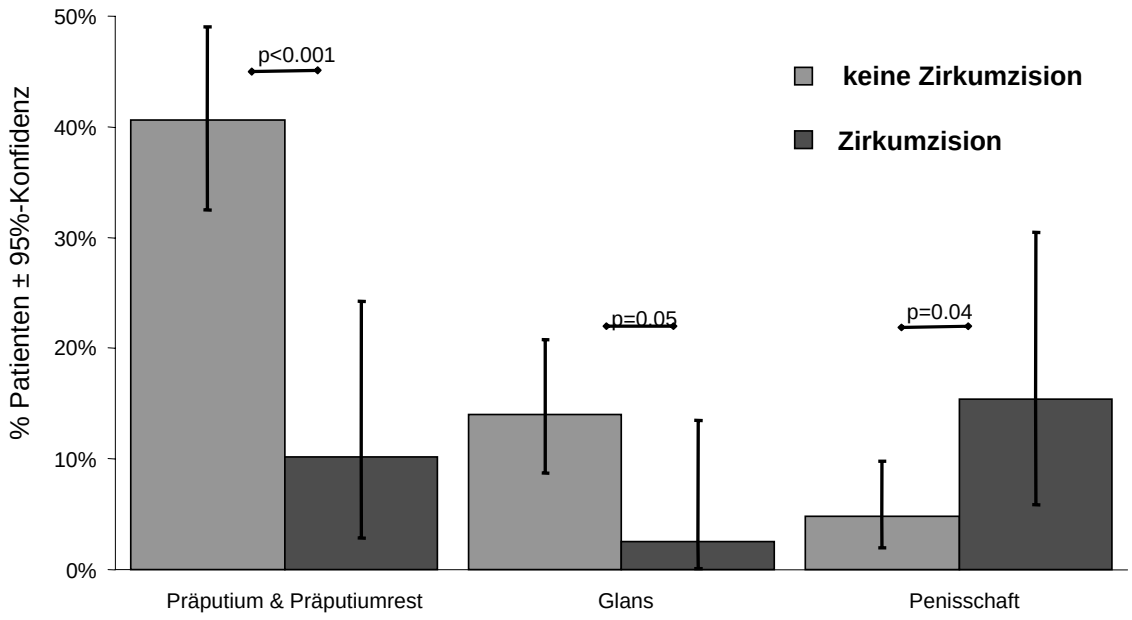

Abbildung 7: Vergleich der Häufigkeit von subklinischen Effloreszenzen bei Patienten mit und ohne Zirkumzision. Statistischer Test: Fisher-Test (zweiseitig).

3.1.5 Häufigkeit urethraler Kondylome in Abhängigkeit von Vorbehandlungen

Von den 182 untersuchten Patienten erfolgte die Überweisung von 109 Patienten zur Primärtherapie. Im Gegensatz dazu wurden 73 Patienten zur Sekundär-therapie nach oft mehrfachen externen Vorbehandlungen überwiesen (siehe hierzu Tabelle 1). Der Unterschied der Prävalenz von urethralen Kondylomen je nach Therapie war statistisch hochbedeutsam (p=0.002, zweiseitiger Fisher-Test), wie Abbildung 8 wiedergibt:

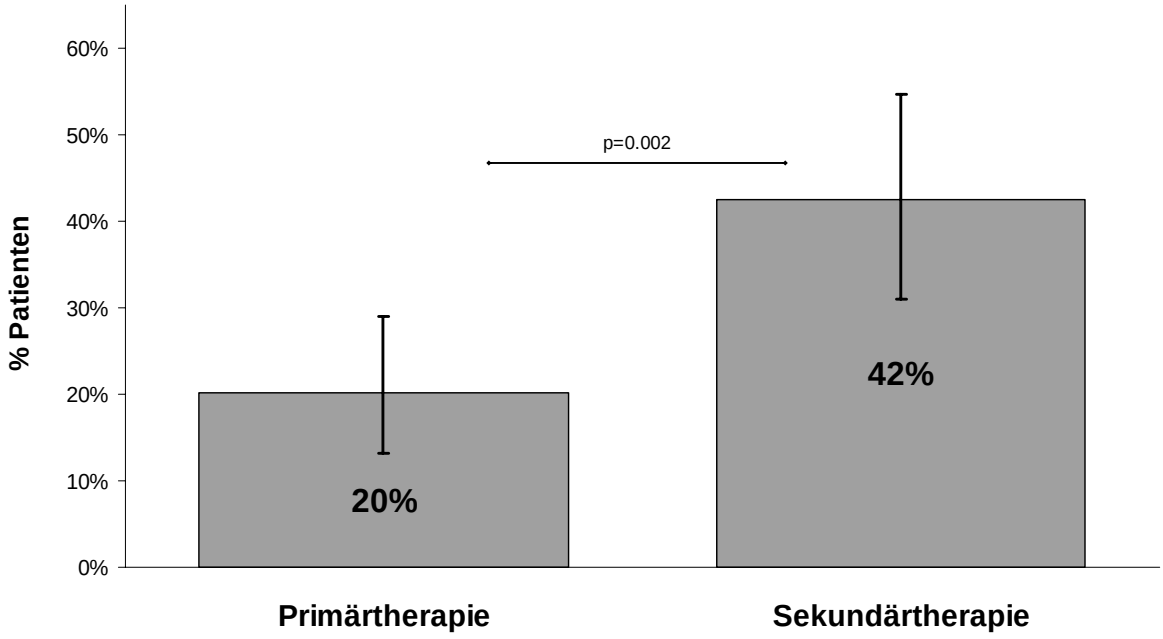

Abbildung 8: Häufigkeit urethraler Kondylome. Ein p-Wert < 0.05 weist auf einen explorativ signifikanten Unterschied hin. Statistischer Test: Zweiseitiger Fisher-Test.

Patienten, die zur Sekundärtherapie überwiesen wurden, hatten mit 42% eine etwa doppelt so hohe Prävalenz urethraler Kondylome als Patienten, die zur Primärtherapie kamen (20%).

3.2 Patientenkollektiv II

3.2.1 Alter und Vorbehandlungen

Insgesamt stellten sich 97 Patienten zur Behandlung urethraler Kondylome in der HPV-Sprechstunde der Urologischen Klinik der LMU München vor. Zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung lag das Alter der Patienten zwischen 19 und 59 Jahren, das Durchschnittsalter lag bei 29 Jahren. Von den insgesamt 97 Patienten stellten sich 47 Patienten zur Primärtherapie vor. Davon wurden 17 Patienten von niedergelassenen Kollegen aufgrund ausgedehnter Lokalbefunde gleich zur Primärtherapie an die Urologische Klinik der LMU München überwiesen. Bei 50 Patienten wurden zunächst ambulant zwischen 1-3 verschiedene

Vorbehandlungen durchgeführt (vgl. dazu Tabelle 2), bevor eine Überweisung der Patienten zur Sekundärtherapie erfolgte. Die Überweisung dieser Patienten erfolgte überwiegend bei Versagen der ambulanten medikamentösen und chirurgischen Therapieverfahren und/oder dem Auftreten von Komplikationen.

Bei fast 2/3 der überwiesenen Patienten erfolgte die Überweisung durch einen niedergelassenen Urologen. In 74% der Fälle handelte es sich dabei um eine Vorstellung zur Sekundärtherapie.

3.2.2 Befund äußeres Genitale

Im Rahmen der Erstuntersuchung wurden, nach gründlicher Inspektion des äußeren Genitales vor und nach Essigsäuretestung, bei 59 von 97 Patienten neben den Harnröhrenkondylomen noch weitere Condylomata acuminata im Bereich des äußeren Genitales nachgewiesen. Betroffen waren dabei das Präputium, die Glans penis, der Penisschaft, das Skrotum sowie die Perianalzone, wobei sich eine multilokuläre Verteilung der HPV-Effloreszenzen zeigte. Zusätzlich konnten essigsäurepositive subklinische Effloreszenzen bei 31 dieser Patienten am äußeren Genitale nachgewiesen werden.

Einen isolierten Befall der Harnröhre ohne Mitbeteiligung des äußeren Genitales wiesen 38 von 97 (39,2%) Patienten auf.

Nebenbefundlich wurden bei 12 der untersuchten Patienten Hypospadien festgestellt. Bei einem der Patienten handelte es sich hierbei um eine Folge ärztlicher Behandlung, bei den übrigen handelte es sich um angeborene Hypospadien. Als weitere Veränderungen zeigten sich bei 15 Patienten Meatusstenosen, welche im Anschluss an die extern durchgeführten Primärtherapien aufgetreten waren.

3.2.3 Befund Harnröhre

Im Bereich der Harnröhre, den Meatus urethrae externus inbegriffen, konnten bei den 97 Patienten bei der Erstuntersuchung insgesamt 125 klinische HPV-Effloreszenzen (Kondylome) nachgewiesen werden. Die Dokumentation der Lokalisation erfolgte in einem Harnröhrenschema, wodurch sich die in Tabelle 5 dargestellte Verteilung ergab.

	Anzahl [n]	[%]
Meatus	74	59
Meatus und Fossa navicularis	36	29
Fossa navicularis	9	7
Prox. Urethra	6	5

Tabelle 5: Lokalisationsverteilung der Harnröhrenkondylome (n=125) bei Erstuntersuchung.

Wie Tabelle 5 darstellt, hatten 29% der Harnröhrenkondylome eine solche Ausdehnung erlangt, dass sie zugleich Meatusbereich und Fossa navicularis betrafen. Doppelt so häufig waren die Harnröhrenkondylome jedoch isoliert am Meatus urethrae externus zu finden. Ein Befall der Fossa navicularis ohne gleichzeitigen Befall des Meatus lag bei 7,2% der Kondylome vor. 4,8% der Harnröhrenkondylome lagen im Bereich der proximalen Urethra. Allerdings konnte ein isolierter Befall der proximalen Urethra nicht gefunden werden, stets waren gleichzeitig auch noch distale Abschnitte der Urethra von Kondylomen betroffen.

3.2.4 Klinische Nachweisbarkeit der Harnröhrenkondylome

Im Rahmen der Erstuntersuchung wurden alle im Bereich des Meatus urethrae externus sowie nach manueller Meatusspreizung innerhalb der einsehbaren Urethra gelegenen Kondylome dokumentiert. 101 der 125 (81%) nachgewiesenen Harnröhrenkondylome lagen im Bereich des Meatus urethrae externus oder innerhalb der mittels manueller Meatusspreizung einsehbaren distalen Harnröhre und wären somit durch eine alleinige klinische Inspektion nachweisbar gewesen.

24 der 125 (19%) Kondylome entzogen sich aufgrund ihrer Lage einer Diagnostik von außen und konnten nur durch eine Urethroskopie diagnostiziert werden.

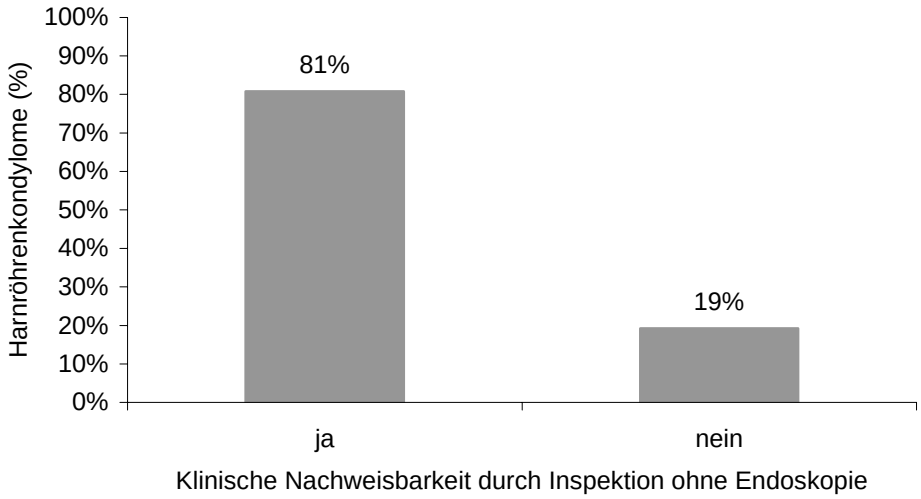

Abbildung 9: Klinische Nachweisbarkeit von urethralen Kondylomen bei Erstuntersuchung durch Inspektion ohne Endoskopie (n=125).

3.2.5 Symptome bei urethralen Kondylomen

Nach ihren Beschwerden befragt, gaben 53 Patienten (54,6%) an, durch die Harnröhrenkondylome keinerlei Beschwerden gehabt zu haben. Bei 21 dieser Patienten waren die Harnröhrenkondylome diagnostiziert worden, ohne dass der Patient sie zuvor bemerkt hatte.

Bei den übrigen 44 Patienten (45,4%) führten die Harnröhrenkondylome zu Symptomen. In Abbildung 10 ist die Häufigkeitsverteilung der bei urethralen Kondylomen beschriebenen Beschwerden dargestellt.

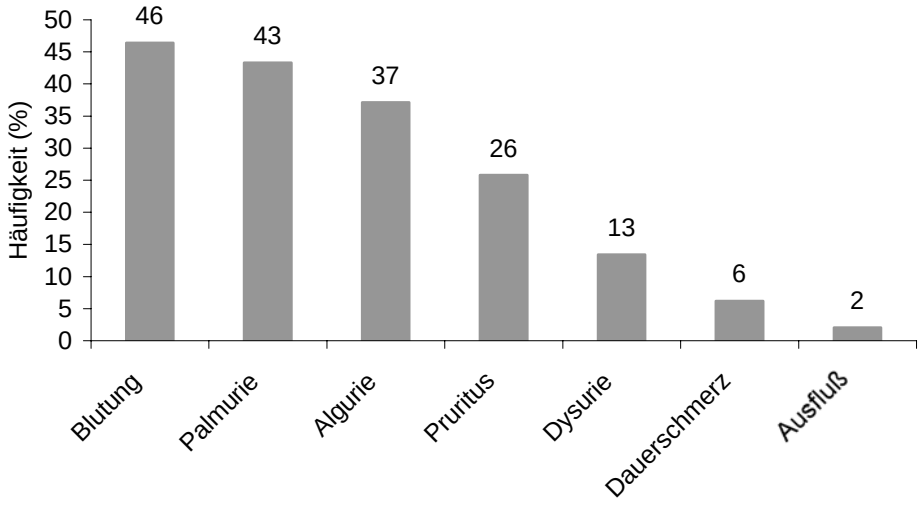

Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung der Beschwerden urethraler Kondylome (n=44).

3.2.6 Rezidivkondylome im Bereich der Urethra

Insgesamt kam es bei 30 von 97 (31%) Patienten im Rahmen der routinemäßigen Nachuntersuchungen nach Lasertherapie in der urologischen Klinik zum Auftreten von 75 Rezidivkondylomen. Als Rezidive nach chirurgischer Behandlung wurden sowohl lokoregionäre Rezidive als auch neu aufgetretene HPV Effloreszenzen in angrenzenden oder entfernteren Lokalisationen gewertet.

Die Dokumentation der Rezidivkondylome in einem Harnröhrenschema zeigte dabei folgende Lokalisationsverteilung:

	Anzahl [n]	[%]
Meatus	40	53
Meatus und Fossa navicularis		
Fossa navicularis	22	29
Prox. Urethra	13	17

Tabelle 6: Lokalisationsverteilung der Harnröhrenkondylome bei Nachuntersuchung (n=75).

Wie bei der Erstuntersuchung waren die Harnröhrenkondylome am häufigsten im Bereich des Meatus (53%) lokalisiert. Im Bereich der Fossa navicularis fanden sich 29% aller Rezidivkondylome, so dass auch die Rezidivkondylome bevorzugt in distalen Abschnitten der Harnröhre zu finden waren. Allerdings fand sich im Vergleich zur Erstuntersuchung ein deutlich häufigeres Auftreten von Rezidivkondylomen im Bereich proximaler Harnröhrenabschnitte. Waren bei Erstuntersuchung nur in 5% der Fälle proximale Abschnitte der Urethra betroffen, so zeigte sich bei den Rezidivkondylomen in 17% ein Befall der proximalen Urethra.

Ebenso zeigte sich im Rahmen der Nachuntersuchungen, im Vergleich zur Erstuntersuchung, eine deutliche Abnahme der klinischen Nachweisbarkeit durch Inspektion ohne Endoskopie.

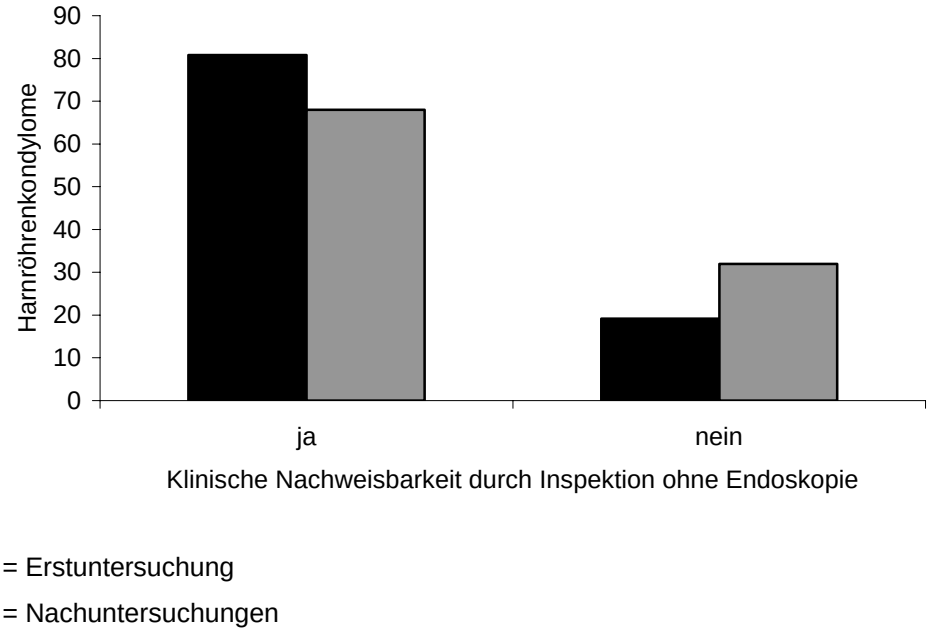

Abbildung 11: Klinische Nachweisbarkeit von Rezidivkondylomen in den Nachuntersuchungen im Vergleich zur Erstuntersuchung durch Inspektion ohne Endoskopie.

Waren bei der Erstuntersuchung noch 81% der urethralen Kondylome am Meatus oder durch manuelle Meatusspreizung nachweisbar, so fand sich im Rahmen der Nachuntersuchungen ohne Endoskopie nur noch eine klinische Nachweisbarkeit von 68%.

Im Vergleich zur Erstuntersuchung, bei der 19% der Kondylome nur durch Urethroskopie diagnostiziert werden konnten, entzogen sich im Rahmen der Nachuntersuchungen 32% der Rezidivkondylome einer Diagnostik von außen.

Nach primärer Lasertherapie lag der Zeitraum bis zum Auftreten eines Rezidivs im Median bei 3 Monaten (Range 1 bis 31 Monate). Im Rahmen der Kontrolluntersuchungen über 1 Jahr wurden ca. 90% der aufgetretenen Rezidive festgestellt (siehe Abbildung 12) und einer erneuten Lasertherapie zugeführt.

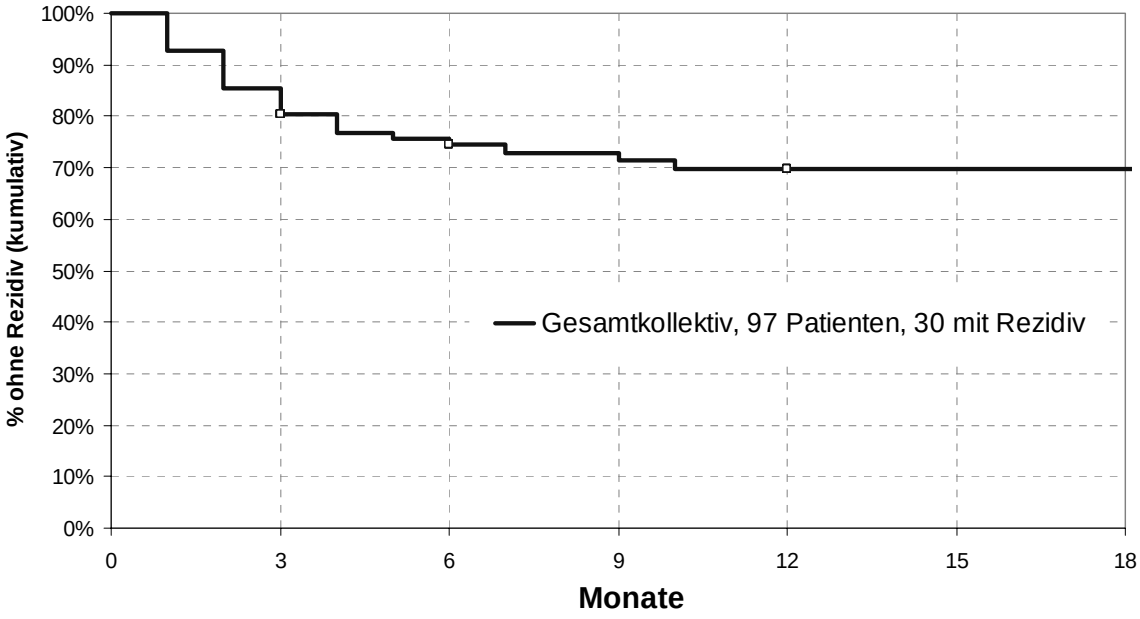

Abbildung 12: Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs nach Erstbehandlung.

Patienten, die zur Sekundärtherapie überwiesen wurden, also bereits vor der Lasertherapie mit unterschiedlichen Methoden vorbehandelt wurden, unterschieden sich in den Rezidivverläufen statistisch nicht bedeutsam ($p=0.52$, $Chi^2=0.4$, log-rank Test) von zur Primärtherapie überwiesenen Patienten. Das Rezidivrisiko stellte sich unkorreliert zur Art der Therapie (primär, sekundär) dar, wie in Abbildung 13 dargestellt.

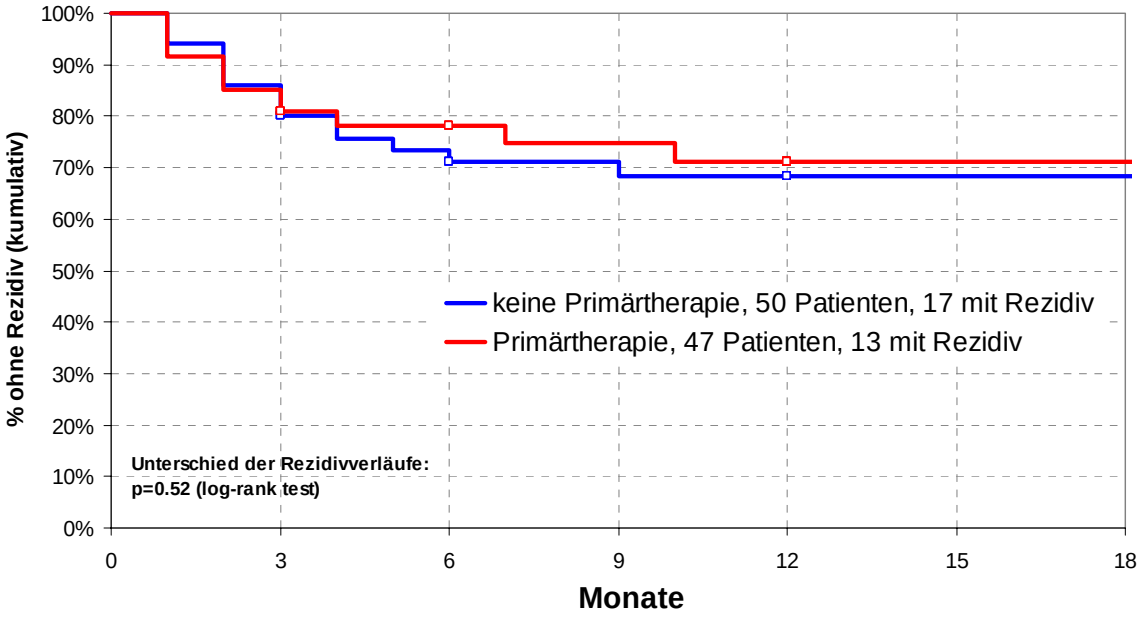

Abbildung 13: Rezidivverläufe unter Berücksichtigung der Therapieform (primär, sekundär).

3.2.7 Lasertherapien

Bei den 97 Patienten wurden insgesamt 162 Lasereingriffe zur Therapie der Harnröhrenkondylome durchgeführt. Bei 59,8% der Patienten gelang eine klinische Sanierung durch eine einmalige Lasertherapiesitzung. Insgesamt 39 Patienten (40,2%) mussten sich bis zur vollständigen klinischen Sanierung mit unauffälligem Follow-up Intervall über 1 Jahr wiederholten Lasertherapien unterziehen. Bei 9 dieser Patienten wurde aufgrund eines ausgedehnten oder zirkulären Befalls der Urethra von vornherein ein mehrzeitiges Vorgehen geplant. Die Lasersitzungen erfolgten dabei in zweiwöchigen Intervallen in einer Anzahl von bis zu vier Sitzungen. Bei den übrigen 30 Patienten traten zwischen 1–5 Rezidive (Durchschnitt 1,70; Median 1) auf, so dass mehrmalige Therapiesitzungen notwendig waren.

Tabelle 7 gibt die Anzahl der durchgeführten Lasertherapiesitzungen bis zur klinischen Sanierung wieder.

Anzahl Lasertherapien (n=162)	Anzahl der Patienten (%)
1	58 (59,8)
2	24 (24,7)
3	8 (8,3)
4	4 (4,1)
5	2 (2,1)
6	1 (1,0)

Tabelle 7: Anzahl der durchgeführten Lasertherapiesitzungen bis zur klinischen Sanierung.

3.2.8 Beschwerden und Komplikationen nach Nd:YAG-Lasertherapie

Bei den von den Patienten im Anschluss an die Lasertherapien aufgetretenen Beschwerden handelte es sich überwiegend um Miktionsbeschwerden, wie Algurie, Dysurie, Palmurie. Die Beschwerdesymptomatik trat dabei vorwiegend in den ersten postoperativen Tagen auf und sistierte im Verlauf.

Die häufigste Komplikation nach den primären oder sekundären Lasertherapien mit dem Nd:YAG Laser stellte die Strikturenbildung im Bereich der Harnröhre dar. Trotz mehrzeitigem Vorgehen bei ausgedehntem Lokalbefund oder zirkulärem Befall der Urethra konnte bei 4,9% der Lasertherapien (entspricht 8 Patienten) eine Strikturbildung im Bereich der Urethra nicht verhindert werden. Durch ein anschließendes Laserurethrotomieverfahren konnten die Strikturen jedoch bei allen Patienten erfolgreich beseitigt werden. Eine weitere Komplikation nach Lasertherapie stellte die Bildung von Schwellkörpernarben dar. Diese war mit einer Inzidenz von 1,2% aller Lasertherapien jedoch deutlich seltener.

Abbildung 14 gibt die Häufigkeitsverteilung der beschriebenen Beschwerden und Komplikationen wieder.

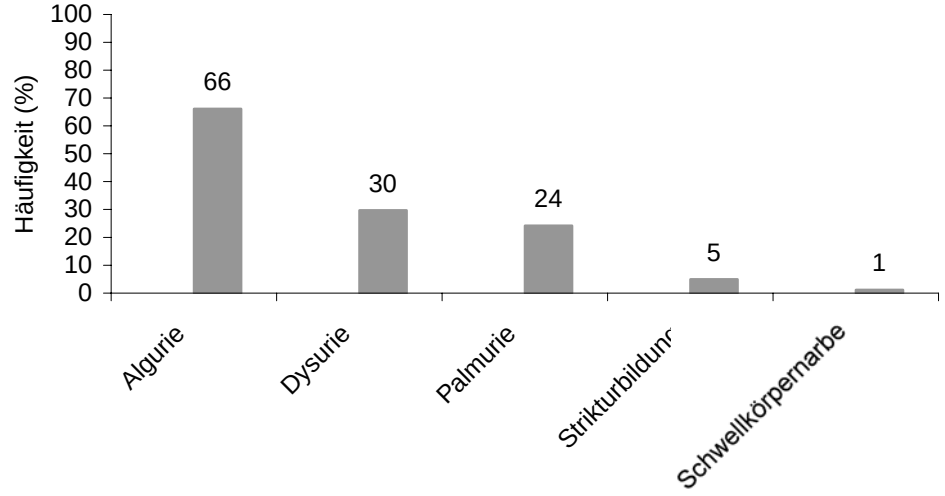

Abbildung 14: Beschwerden und Komplikationen nach primären und sekundären Nd:YAG-Lasertherapien (n=162).

3.3 Patientenkollektiv III

3.3.1 Alter und Vorbehandlung

Zur Nachuntersuchung stellten sich 51 von 97 Patienten vor, welche sich aufgrund von Harnröhrenkondylomen an der Klinik für Urologie der LMU-München in Behandlung befunden hatten. Die Nachuntersuchung erfolgte im Durchschnitt 50,7 Monate nach der initialen Lasertherapie der Harnröhrenkondylome (Tabelle 3).

Zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung lag das Alter der Patienten zwischen 20 und 62 Jahren (Median 31 Jahre).

Bei insgesamt 6 von 51 Patienten wurden zwischen Abschluss der Kontrolluntersuchungen (3, 6, 12 Monate) an der Urologischen Klinik der LMU München und der im Jahre 1999 angebotenen Nachuntersuchung, aufgrund von HPV-Rezidiven, zwischenzeitlich Behandlungen bei niedergelassenen Kollegen durchgeführt (Tabelle 4).

3.3.2 Untersuchungsbefund Urethra

Im Rahmen der Nachuntersuchung konnten bei 12 der 51 Patienten (23,5%) klinische Effloreszenzen im Bereich der Urethra nachgewiesen werden. Die Anzahl der pro Patient nachgewiesenen Rezidivkondylome schwankte zwischen 1-13 Kondylomen, der Median lag bei 1,5. Zusätzlich subklinische Effloreszenzen im Bereich der Urethra fanden sich bei 3 der 12 Patienten.

Ausschließlich subklinische Effloreszenzen im Bereich der Urethra konnten bei einem der 51 Patienten durch die fluoreszenzgestützte Endoskopie diagnostiziert werden.

3.3.2.1 HPV-Laborergebnis der Urethralabstriche

In dem bei jedem Patienten entnommenen Urethralabstrich wurde bei 25 der 51 Patienten (49%) HPV-DNA nachgewiesen. Dabei wiesen 10 der 25 Patienten neben einem positiven HPV-DNA Nachweis im Urethralabstrich gleichzeitig auch klinische und/oder subklinische HPV-Effloreszenzen im Bereich der Urethra auf. Bei einem Patienten mit positivem Urethralabstrich auf HPV-DNA konnte durch die PDD ausschließlich subklinische HPV-Effloreszenzen im Bereich der Urethra nachgewiesen werden. Ein positiver Urethralabstrich auf HPV-DNA, ohne Nachweis einer klinischen oder subklinischen HPV-Effloreszenz im Bereich der Urethra, fand sich bei 14 Patienten der 25 Patienten, so dass dieses als Vorliegen einer latenten HPV-Infektion der Urethra gedeutet wurde.

Bei 2 Patienten konnte im Urethralabstrich keine HPV-DNA nachgewiesen werden, obwohl klinische HPV-Effloreszenzen vorlagen. Die übrigen 24 Patienten, die im Urethralabstrich HPV-DNA-frei waren, zeigten auch keine klinischen oder subklinischen HPV-Effloreszenzen im Bereich der Urethra.

Insgesamt hatten bei positivem Urethralabstrich 11 von 25 Patienten (44%) tatsächlich Rezidive im Sinne einer klinischen und/oder subklinischen Infektion. Bei 14 der 25 positiven Urethralabstriche (56%) hingegen handelte es sich um einen HPV-DNA-Nachweis im Sinne einer latenten Infektion.

In Abbildung 15 sind die Ergebnisse der Urethralabstriche unter Berücksichtigung des urethralen Untersuchungsbefundes aller nachuntersuchten Patienten dargestellt.

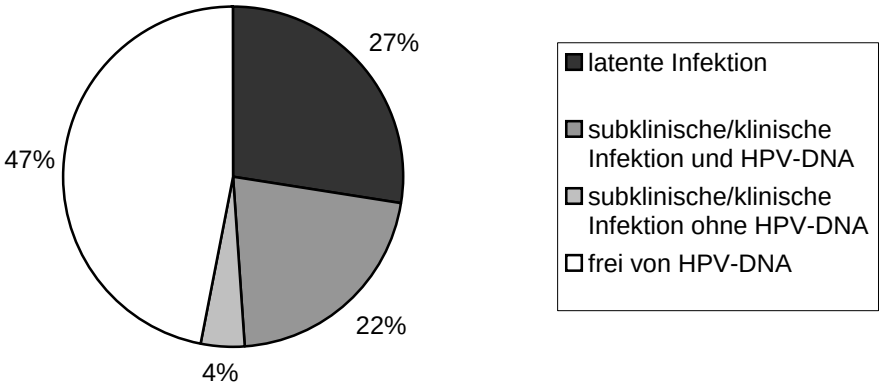

Abbildung 15: Ergebnisse der Urethralabstriche der nachuntersuchten Patienten (n=51).

3.3.2.2 HPV-Typenspektrum im Bereich der Urethra

Im Rahmen der labortechnischen Untersuchung der Biopsien aus den klinischen Rezidiven im Bereich der Urethra konnte in allen Proben HPV-DNA nachgewiesen werden, wobei in 11 der 12 Proben jeweils ein HPV-Genotyp nachgewiesen werden konnte und eine Probe zwei HPV-Genotypen enthielt.

Ferner konnte in 25 von 51 entnommenen Urethralabstrichen HPV-DNA nachgewiesen werden. In 22 der 25 positiven Urethralabstriche wurde lediglich ein HPV-Genotyp nachgewiesen. In zwei Urethralabstrichen fanden sich zwei HPV-Genotypen und bei einem Patienten konnten aus dem Urethralabstrich insgesamt drei verschiedene HPV-Genotyen isoliert werden.

Eine Übersicht über die in Biopsien urethraler Rezidive sowie Urethralabstrichen nachgewiesene HPV-Genotypen gibt Tabelle 8.

HPV-Genotyp	Urethralabstrich	Biopsien urethraler Rezidive
6	12x	8x
11	2x	2x
16	2x	
18	1x	
31	3x	1x
34	-	1x
37	1x	
45	1x	
52	1x	
58	1x	
CP 6108	3x	
Pso X1	1x	
X	1x	1x

Typ X: HPV-DNA in Biopsie nachweisbar, Typ nicht identifizierbar
CP 6108/ Pso X1: Kürzlich publizierter, putativ neuer HPV-Typ mit noch nicht vollständig analysierter DNA Sequenz
Fette Markierung: High-Risk-Typen [103]
Unterstrichen: Epidermodysplasia veruciformis assozierte Typen [45, 42]

Tabelle 8: Nachgewiesene HPV-Genotypen in Biopsien aus klinischen urethralen Rezidiven und Urethralabstrichen.

Insgesamt konnten im Bereich der Urethra 12 verschiedene HPV-Genotypen nachgewiesen werden. Bei zwei Proben war die Zuordnung der vorhandenen HPV-DNA zu einem bestimmten HPV-Genotyp nicht möglich. Diese HPV-DNA wurde als Typ X bezeichnet.

In der HPV-DNA Analyse konnte sowohl in den Urethralabstrichen, als auch in den Biopsien Typ 6 als dominierender HPV-Genotyp nachgewiesen werden. Weitere relativ häufig gefundene HPV-Genotypen waren der Typ 11, 31 und CP 6108.

In den urethralen Rezidiven überwogen deutlich die benignen HPV-Genotypen gegenüber den zwei nachgewiesenen High-Risk-Typen Typ 31 und Typ 34.

Deutlich mehr High-Risk-Typen als in den Biopsien konnten mit insgesamt 6 verschiedenen High-Risk-Typen in den Urethralabstrichen nachgewiesen werden. Weiterhin konnte in einem Urethralabstrich auch ein kutaner, Epidermodysplasia verruciformis assozierter HPV-Genotyp Typ 37 nachgewiesen werden [45, 42].

3.3.3 Untersuchungsbefund äußeres Genitale

Im Rahmen der Nachuntersuchung konnten bei insgesamt 9 der 51 Patienten (17,6%) subklinische und/oder klinische Rezidive im Bereich des äußeren Genitales festgestellt werden. 8 Patienten wiesen ausschließlich klinische Rezidive auf, bei einem Patienten wurden ausschließlich subklinische Rezidive im Bereich des äußeren Genitales festgestellt.

Eine multilokuläre Verteilung der HPV-Effloreszenzen fand sich bei 2 der 8 Patienten. Bezüglich der Lokalisationsverteilung fanden sich die klinischen Effloreszenzen bei 6 Patienten im Schaftbereich. 3 Patienten wiesen HPV-Effloreszenzen am inneren Präputialblatt und 2 Patienten im Perianalbereich auf. Bei einem Patienten war noch zusätzlich das Skrotum von HPV-Effloreszenzen betroffen. Die bei einem Patienten nachgewiesenen subklinischen Effloreszenzen fanden sich im Bereich des Präputiums.

Die übrigen 42 nachuntersuchten Patienten waren frei von subklinischen oder klinischen HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales.

3.3.3.1 HPV-Laborergebnis äußeres Genitale

Insgesamt konnte bei 15 der 51 Patienten (29,4%) im Bereich des klinisch unauffälligen Kontrollareals HPV-DNA im Sinne einer latenten HPV-Infektion nachgewiesen werden. Neben dem HPV-positiven Kontrollareal wiesen 7 der 15 Patienten gleichzeitig auch klinische HPV-Effloreszenzen im Bereich des äußeren Genitales auf.

Bei 36 der 51 Patienten (70,6%) war das Kontrollareal frei von HPV-DNA.

3.3.3.2 HPV-Typenspektrum äußeres Genitale

In allen Rezidiven im Bereich des äußeren Genitales konnte durch die labortechnischen Untersuchungen HPV-DNA nachgewiesen werden. Dabei fand sich pro Probe jeweils nur ein HPV-Genotyp. Bei einer Probe war die Zuordnung der vorhandenen HPV-DNA zu einem bestimmten HPV-Genotyp nicht möglich. Diese HPV-DNA wurde als Typ X bezeichnet.

Im Rahmen der aus dem klinisch unauffälligen Kontrollareal des äußeren Genitales entnommenen Biopsien, konnte bei 10 Patienten nur ein HPV-Genotyp identifiziert werden. Jeweils zwei verschiedene HPV-Genotypen fanden sich in den Proben von insgesamt 5 Patienten. In Tabelle 9 ist das Typenspektrum der am äußeren Genitale nachgewiesenen HPV-Genotypen dargestellt.

HPV-Typ	Kontrollareal	Rezidive
5	2x	
6	6x	5x
11	1x	1x
14	1x	
16	1x	1x
17	1x	
18	1x	
47	2x	
58	1x	
59	1x	
64	1x	1x
68	1x	
74	1x	
X		1x

Typ X: HPV-DNA in Biopsie nachweisbar, Typ nicht identifizierbar
Fette Markierung: High-Risk-Typen [103]
Unterstrichen: Epidermodysplasia verruciformis assozierte Typen [45, 42]

Tabelle 9: Nachgewiesene HPV-Genotypen in Biopsien aus dem Kontrollareal und den Rezidiven im Bereich des äußeren Genitales.

Sowohl im Bereich des Kontrollareals als auch im Bereich der Rezidive des äußeren Genitales konnte HPV-Typ 6 als dominierender Typ nachgewiesen werden. In den Rezidiven fanden sich daneben noch drei weitere HPV-Genotypen, wovon einer der High-Risk Gruppe zugeordnet werden kann.

Ein deutlich größeres Spektrum verschiedener HPV-Genotypen fand sich im Bereich des untersuchten Kontrollareals. Insgesamt konnten hier 13 verschiedene HPV-Typen nachgewiesen werden, davon 5 High-Risk Typen. Wie auch im Urethralabstrich konnten am äußeren Genitale neben den mukosaassoziierten HPV-Typen auch die als kutan geltenden Epidermodysplasia verruciformis assoziierten HPV Typen 5, 14 und 17 nachgewiesen werden.

3.3.4 Zusammenfassung klinischer und labortechnischer Parameter

Einen zusammenfassenden Überblick über den HPV-Status der 51 Patienten zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung, erhoben durch klinische Untersuchung sowie labortechnische HPV-DNA-Analysen, gibt Abbildung 16.

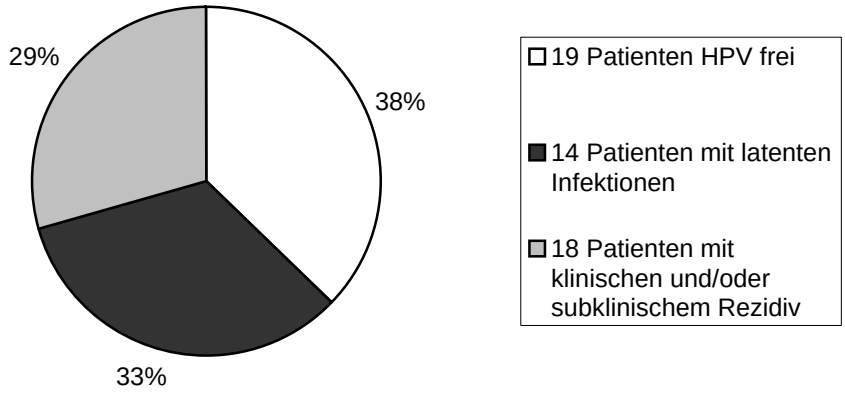

Abbildung 16: HPV-Status der 51 Patienten zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung.

Bei insgesamt 19 der 51 Patienten (37,3%) konnte selbst mit aufwendigsten labortechnischen Verfahren eine HPV-Infektion im Bereich des äußeren Genitales sowie der Urethra nicht mehr nachgewiesen werden.

Klinische Effloreszenzen im Bereich der Urethra fanden sich bei insgesamt 12 Patienten. Bei 7 der 12 Patienten fanden sich auf die Urethra beschränkte klinische HPV-Effloreszenzen. Interessanterweise konnte bei diesen Patienten in den Urethralabstrichen und klinischen Rezidiven derselbe HPV-Genotyp nachgewiesen werden.

Klinische Infektionen der Urethra gemeinsam mit einer HPV-Infektion des äußeren Genitales wiesen insgesamt 5 Patienten auf. Während sich bei 4 Patienten gleichzeitig klinische Effloreszenzen im Bereich der Urethra und des äußeren Genitales fanden, konnte bei einem Patienten lediglich eine latente Infektion im Bereich des Kontrollareals nachgewiesen werden.

Ausschließlich klinische Effloreszenzen im Bereich des äußeren Genitales wiesen 2 der nachuntersuchten Patienten auf.

Subklinische Effloreszenzen der Urethra wurden bei insgesamt 4 Patienten diagnostiziert. Lediglich bei einem Patienten zeigten sich ausschließlich subklinische Effloreszenzen der Urethra. Bei den übrigen 3 Patienten traten die subklinischen HPV-Effloreszenzen zusammen mit klinischen HPV-Effloreszenzen der Urethra auf .

Bei insgesamt 17 Patienten wurden latente HPV-Infektionen nachgewiesen.

Bei 14 der 17 Patienten (82%) handelte es sich dabei um latente Infektionen der Urethra.

Eine ausschließlich latente HPV-Infektion der Urethra fand sich dabei bei 7 Patienten. Latente Infektionen der Urethra und eine gleichzeitig bestehende latente Infektion des äußeren Genitales wiesen 4 Patienten auf. Bei weiteren 3 Patienten fanden sich, neben den latenten Infektionen der Urethra, klinische Effloreszenzen im Bereich des äußeren Genitales. Eine Übereinstimmung zwischen denen in der Urethra und am äußeren Genitale nachgewiesenen HPV-Genotypen fand sich in allen untersuchten Fällen nicht.

Eine ausschließlich im Bereich des äußeren Genitales nachgewiesene latente Infektion bestand bei 3 Patienten (18%).

3.4 Patientenkollektiv IV

3.4.1 Untersuchungsbefund körperliche Untersuchung

Von den 40 untersuchten männlichen Patienten waren insgesamt 8 Patienten an Kondylomen im Bereich der Urethra erkrankt. 3 von 8 Patienten wiesen neben den urethralen Kondylomen zudem noch Kondylome im Bereich des äußeren Genitales auf. Insgesamt 11 Patienten zeigten bei der körperlichen Untersuchung mit manueller Meatusspreizung ausschließlich Kondylome des äußeren Genitales. Bei den übrigen 21 Patienten fanden sich in der körperlichen Untersuchung weder Kondylome des äußeren Genitales noch Kondylome der Urethra; sie dienten als Kontrollgruppe.

Von den 6 untersuchten weiblichen Patienten konnten bei einer Patientin Kondylome im Bereich der Labien und des Introitus vaginae nachgewiesen werden. Alle übrigen Patientinnen waren zum Untersuchungszeitpunkt nicht an Kondylomen erkrankt.

3.4.2 Volumen Erststrahlurinproben

Von den männlichen Patienten wurden im Rahmen der Untersuchung Erststrahlurinproben mit einem Volumen von durchschnittlich 140 ml abgegeben (Range von 50 bis 200 ml). Bei den weiblichen Patientinnen lag das Volumen der Erststrahlurinproben zwischen 100 und 200 ml, im Durchschnitt betrug das Volumen der Proben 125 ml.

3.4.3 Ergebnis des Testverfahrens ViroaktivTM

Von den Erststrahlurinproben der untersuchten 40 männlichen Patienten wurden insgesamt 82 Untersuchungspräparate angefertigt. Bei 78 der angefertigten Präparate handelte es sich um Urinsedimentausstriche. Bei einem Patienten

(Patient Nr. 6) wurden aufgrund einer durch eine Niereninsuffizienz bedingten Anurie die Präparate aus Harnröhrenspülflüssigkeit angefertigt.

Von den untersuchten weiblichen Patienten wurden insgesamt 12 Untersuchungspräparate angefertigt. Dabei handelte es sich bei allen angefertigten Präparaten um Urinsedimentausstriche der Erststrahlurinproben.

Als Präparate zur Positivkontrolle des Viroaktiv™-Testverfahrens dienten bei Patient Nr. 6 aus Urethralabstrichen hergestellte Präparate.
In Tabelle 10 sind die Ergebnisse des Viroaktiv™-Testverfahrens der 46 Patienten dargestellt.

Proben-Nummer	Geschlecht	Klinischer Befund			Untersuchungs-material	Ergebnis Viroaktiv
		Keine Kondylome	Kondylome äußeres Genitale	Kondylome Urethra		
1	männlich			x	Urinsediment	neg
2	männlich			x	Urinsediment	neg
3	männlich	x			Urinsediment	neg
4	männlich		x		Urinsediment	neg
5	männlich		x		Urinsediment	neg
6	männlich			x	Urethralabstrich	neg
					Spülflüssigkeit Harnröhre	**pos**
7	männlich		x		Urinsediment	neg
8	männlich		x		Urinsediment	neg
9	männlich	x			Urinsediment	neg
10	männlich	x			Urinsediment	neg
11	männlich		x		Urinsediment	neg
12	männlich	x			Urinsediment	neg
13	männlich	x			Urinsediment	neg
14	männlich	x			Urinsediment	neg
15	männlich	x			Urinsediment	neg
16	männlich	x			Urinsediment	neg
17	männlich	x			Urinsediment	neg
18	männlich	x			Urinsediment	neg

19	männlich	x			Urinsediment	neg
20	männlich	x			Urinsediment	neg
21	männlich	x			Urinsediment	neg
22	männlich	x			Urinsediment	neg
23	männlich	x			Urinsediment	neg
24	männlich	x			Urinsediment	neg
25	männlich	x			Urinsediment	neg
26	männlich		x		Urinsediment	neg
27	männlich			x	Urinsediment	neg
28	männlich	x			Urinsediment	neg
29	männlich		x	x	Urinsediment	neg
30	männlich		x		Urinsediment	neg
31	männlich		x		Urinsediment	neg
32	männlich	x			Urinsediment	neg
33	männlich			x	Urinsediment	neg
34	männlich	x			Urinsediment	neg
35	männlich		x	x	Urinsediment	**pos**
36	männlich		x	x	Urinsediment	neg
37	männlich		x		Urinsediment	neg
38	männlich	x			Urinsediment	neg
39	männlich		x		Urinsediment	neg
40	männlich		x		Urinsediment	neg
41	weiblich	x PAP III			Urinsediment	neg
42	weiblich		x		Urinsediment	neg
43	weiblich	x PAP IIb			Urinsediment	neg
44	weiblich	x PAP IV a			Urinsediment	neg
45	weiblich	x PAP IV a			Urinsediment	**pos**
46	weiblich	x PAP III			Urinsediment	neg

Tabelle 10: Ergebnisse des Testverfahrens Viroaktiv in Urinsedimentausstrichen von 46 Patienten.

Insgesamt fiel das Testergebnis bei 2 (Nr. 6, Nr 33) von 8 (25%) an Harnröhrenkondylomen erkrankten männlichen Patienten positiv aus. Abbildung 16 zeigt die, als positives Testergebnis gewertete intranukleäre Anfärbung.

Bei den übrigen 6 Patienten mit urethralen Kondylomen handelte es sich hingegen um falsch negative Testergebnisse. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den

Patienten, welche nur an Kondylomen des äußeren Genitales erkrankt waren, keine positiven Testergebnisse. Männliche Patienten, die nicht an urethralen oder genitalen Kondylomen erkrankt waren und als Kontrollgruppe dienten, wiesen alle ein negatives Testergebnis auf.

Bei den im Rahmen der Dysplasiesprechstunde untersuchten Erststrahlurinproben von 6 Patientinnen, zeigte sich bei einer Patientin ein positives Testergebnis, wobei sich bei dieser Patientin im Rahmen der körperlichen Untersuchung keine urethralen oder genitalen Kondylome fanden. Bei den übrigen 5 Patientinnen fiel das Testergebnis des Viroaktiv-Testverfahrens negativ aus.

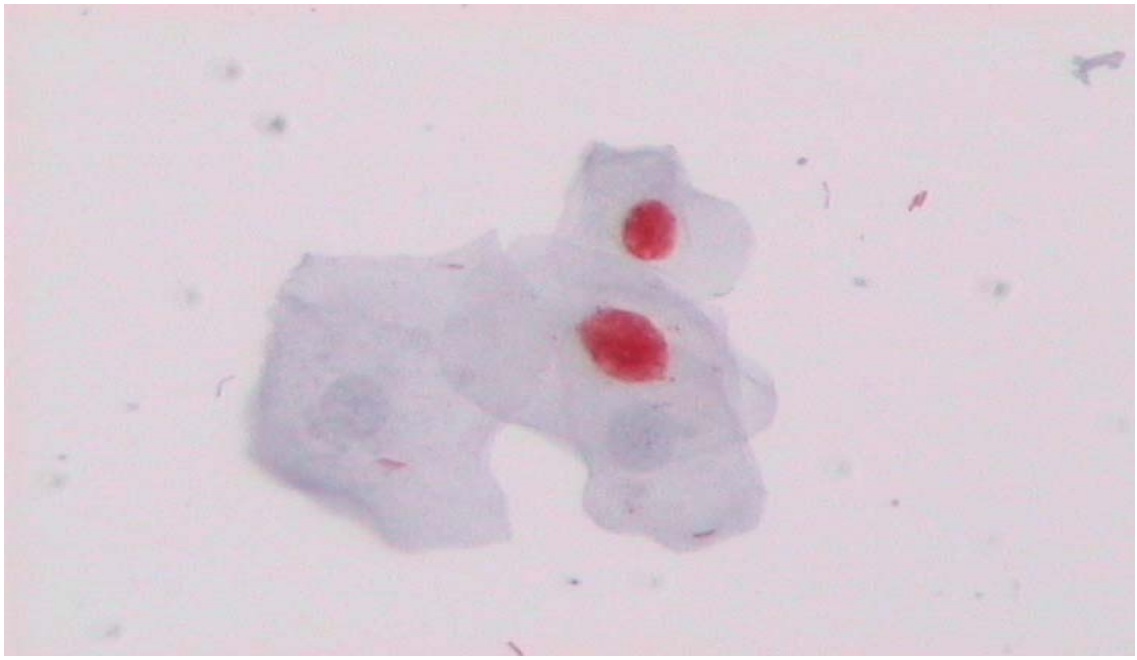

Abbildung 17: Intranukleäre Anfärbung durch Testverfahren Viroaktiv.

Im Rahmen der mikroskopischen Begutachtung der Präparat konnten des Weiteren unspezifische zytoplasmatische Anfärbungen in insgesamt 3 der als negativ befundeten Präparate (Nr.1, Nr. 3, Nr 36) beobachtet werden. Weiterhin wies auch ein als positiv bewertetes Präparat, neben den intranukleären Anfärbungen, unspezifische zytolasmatische Anfärbungen auf (Nr. 45). Diese unspezifischen zytoplasmatischen Anfärbungen, welche sich in Form von distinkten punktuellen Zytoplasmafärbungen darstellen, zeigt Abbildung 18.

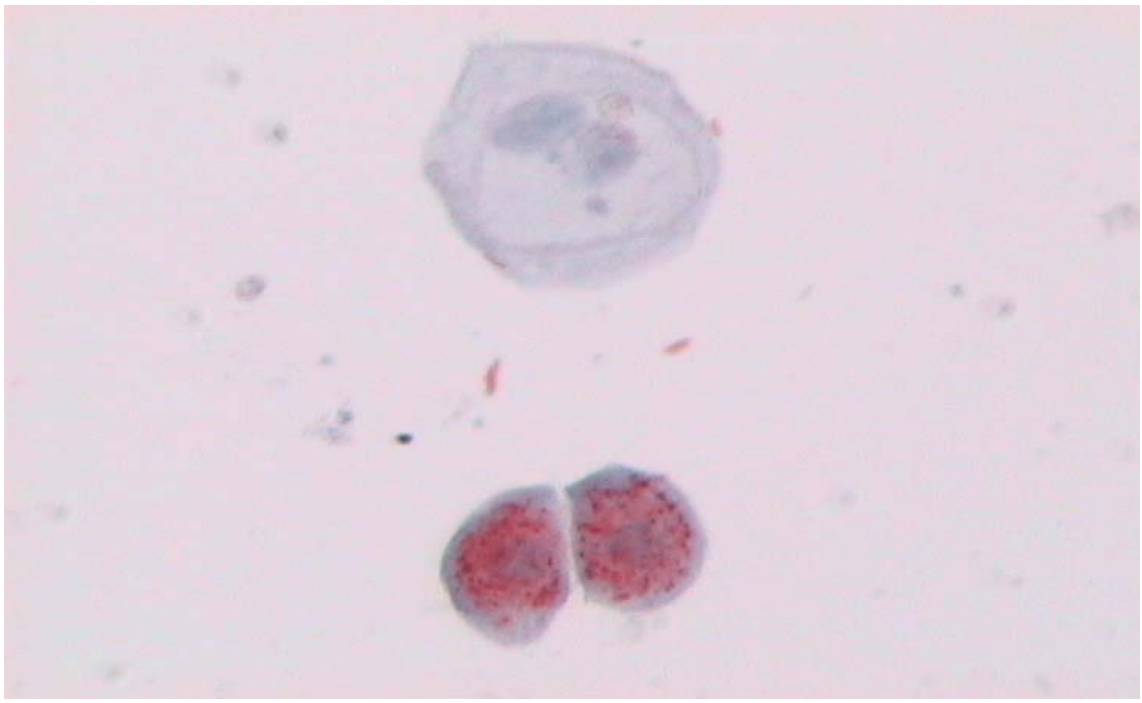

Abbildung 18: Unspezifische zytoplasmatische, distinkt punktuelle Anfärbungen.

Daneben konnte in einigen Präparaten, wie in Abbildung 19 dargestellt, eine positive Färbereaktion für intra- und extrazellulär gelegene Bakterien gefunden werden.

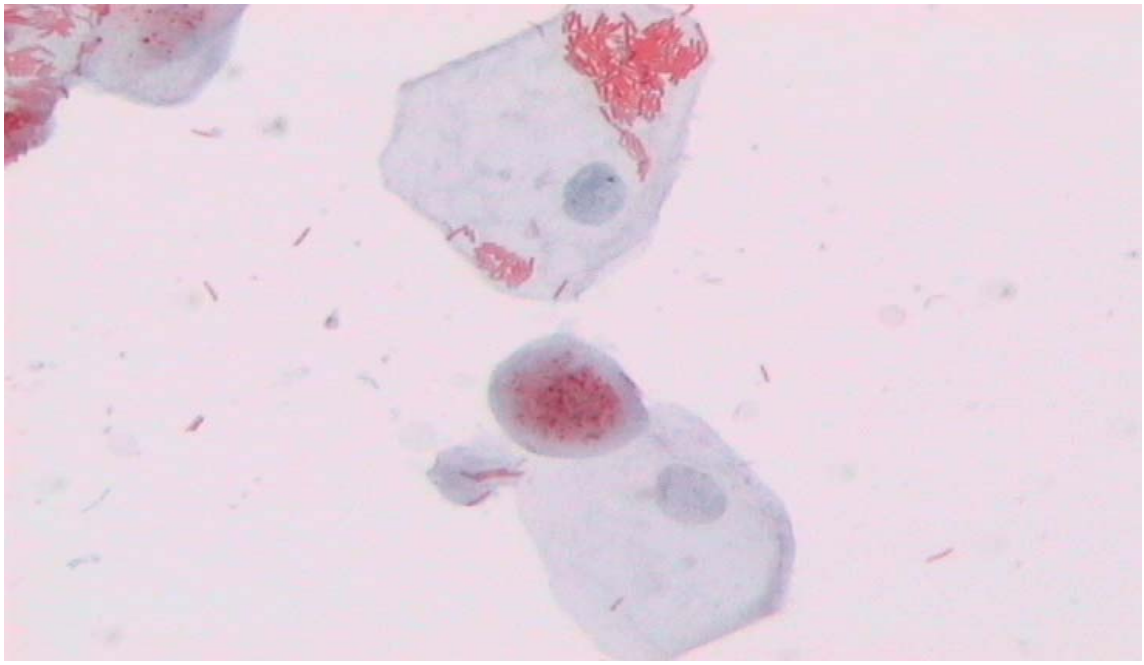

Abbildung 19: Unspezifische zytoplasmatische Anfärbung sowie positive Anfärbung von extra- und intrazellulär gelegenen Bakterien.

4 Diskussion

HPV-Infektionen der Urethra werden in Abhängigkeit der Screening-Methoden und der untersuchten Populationen in 7-53% festgestellt [117] und führen häufiger bei Männern als bei Frauen zur Ausbildung von Harnröhrenkondylomen [19, 79].

Abhängig von der untersuchten Studienpopulation und vom Untersuchungszeitpunkt schwankt das Vorkommen urethraler Kondylome von 3-5% bei männlichen Partnern HPV infizierter Frauen bis hin zu 5-33% selbst an Kondylomen des äußeren Genitales erkrankter Männer [7, 14, 19, 48, 53, 69, 79, 86, 88, 102, 108]. Heute ist davon auszugehen, dass jeder vierte Mann mit Kondylomen des äußeren Genitales auch an Harnröhrenkondylomen erkrankt ist [44].

Autor	Patientenanzahl [n]	Patienten [n] mit urethralen Kondylomen
[79]	191	44 (23%)
[19]	246	25 (10%)
[108]	136	14 (10%)
[7]	105	22 (21%)
[86]	191	63 (33%)
[53]	52	17 (33%)
[69]	1080	140 (13%)
[88]	230	75 (33%)
[48]	64	14 (22%)
[75]	107	23 (22%)
[102]	625	105 (17%)

Tabelle 11: Häufigkeit urethraler Kondylome bei Patienten mit Kondylombefall des äußeren Genitales.

Vergleicht man unsere Studienergebnisse mit denen anderer Studiengruppen [siehe Tabelle 11], so fällt der von uns festgestellte Anteil urethraler Kondylome, bei Patienten mit Kondylombefall des äußeren Genitales, mit 29% vergleichsweise hoch aus. Unterschiede im diagnostischen Vorgehen scheiden als mögliche Ursache weitestgehend aus, da bis auf wenige Ausnahmen [19,79] in o.g. Studien genaue Angaben zu den durchgeführten Untersuchungen gemacht werden. Umfang und Art der angegebenen diagnostischen Untersuchungen zum Nachweis urethraler Kondylome [7, 48, 53, 69, 86, 88, 102, 108] entsprechen dabei dem in

unserer Studie gewählten Vorgehen. So mag der hohe Anteil urethraler Kondylome bei unserem Patientengut zum einen an der negativen Selektion liegen. Diese kommt durch die gezielte Überweisung der Patienten in die HPV-Spezialsprechstunde der urologischen Klinik bei nachgewiesener urethraler Beteiligung zustande. Zum anderen könnte es an der im Vergleich zu anderen Untersuchungen [69: n=1080, 102: n=625] kleinen Stichprobengröße [n=182] unserer Studie liegen.

Ferner zeichnet sich unsere Studienpopulation im Vergleich zu anderen Studien durch einen hohen Anteil (40,1%) zur Sekundärtherapie überwiesener Patienten aus.

Wie in unserer Studie gezeigt werden konnte, sind die nach multiplen ambulanten Vorbehandlungen der urethralen Kondylome überwiesenen Patienten annähernd doppelt so häufig von urethralen Kondylomen betroffen als zur Primärtherapie überwiesene Patienten. Neben dem von Oriel nachgewiesenem zeitlichen Zusammenhang zwischen der Ausbildung eines urethralen Befalls und der Erkrankungsdauer [79] scheinen auch die multiplen Vorbehandlungen eine HPV-Besiedelung der Urethra zu fördern. Als mögliche Mechanismen kommen die im Rahmen von chirurgischen Therapieverfahren beobachtete iatrogene Virusverschleppung [28, 97, 119] sowie die HPV-DNA Kontamination von verwendeten Instrumenten [31, 68] in Frage. Zu bedenken ist ferner, inwieweit auch die bei unseren Patienten ambulant eingesetzten Therapien mit differenten Externa eine HPV-Besiedelung der Urethra begünstigt haben könnten. Aynaud [4] und Mc Kenna [69] konnten im Rahmen ihrer Studien eine bakterielle Urethritis als begünstigenden Faktor für die HPV-Kolonisation der Urethra nachweisen. Histologische Untersuchungen der urethralen Schleimhaut zeigten hierbei Plattenepithelmetaplasien des urethralen Epithels als Folge der Urethritis. Ferner konnte nachgewiesen werden, dass sich urethrale HPV-Infektionen vorwiegend im Bereich von Plattenepithelmetaplasien der urethralen Schleimhaut befinden [25].

Bei den in unserer Patientengruppe verwendeten medikamentösen Therapieformen handelt es sich um Medikamente, die nicht für den Gebrauch in der Urethra vorgesehen sind und deren Applikation nur sehr ungenau erfolgen kann.

In der Literatur wird, nach meataler und intraurethraler Anwendung dieser Substanzen, über starke lokale Entzündungsreaktionen und Schleimhauterosionen berichtet [28]. Entsprechend den bei bakteriellen Urethritiden entstehenden Epithelveränderungen wäre es denkbar, dass es auch nach Applikation dieser Substanzen zur Ausbildung von Plattenepithelmetaplasien und somit zu einer Begünstigung der HPV-Besiedelung der Urethra kommt.

Urethrale Kondylome und Zirkumzisionsstatus

Die anatomische Verteilung der Kondylome unter Berücksichtigung des Zirkumzisionsstatus in unserer Studie entsprach den Ergebnissen anderer Studiengruppen. Insgesamt konnte bei zirkumzidierten und nicht-zirkumzidierten Patienten kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von klinischen HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales gefunden werden, was den Ergebnissen anderer Studiengruppen entspricht [4, 21]. Bei den nicht zirkumzidierten Männern unserer Patientengruppe waren, wie auch bei Oriel [79], die Kondylome am häufigsten im Bereich des Präputiums und des Frenulums lokalisiert. Demgegenüber fanden sich bei zirkumzidierten Männern, entsprechend der Studie von Chuang [19], klinische HPV-Effloreszenzen am häufigsten im Bereich des Penisschaftes. Was das Vorkommen subklinischer Effloreszenzen des äußeren Genitales unter Berücksichtigung des Zirkumzisionsstatus angeht, so zeigten sich bei unseren zirkumzidierten Patienten signifikant weniger subklinische Effloreszenzen als bei den Männern ohne Zirkumzision. Dies lässt sich dadurch erklären, dass durch die Zirkumzision mit dem Präputium der Prädilektionsort der subklinischen Effloreszenzen [108] entfernt wird.

Ein Einfluss des Zirkumzisionsstatus auf das Vorkommen urethraler Kondylome konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden. Zirkumzidierte und nicht zirkumzidierte Männer waren annähernd gleich häufig (28,2% versus 29,4%) von urethralen Kondylomen betroffen, was den Ergebnissen von Oriel [79] und Aynaud [4] entspricht. Im Gegensatz zur Glans, die durch die Zirkumzision eine Verhornung des Epithels entwickelt und damit resistenter gegenüber Abrasionen oder Mikroverletzungen ist, besteht das Epithel am Meatus und in der distalen

Urethra durch die Zirkumzision unverändert fort [16]. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die gleiche Häufigkeit urethraler Kondylome bei zirkumzidierten und nichtzirkumzidierten Männern sein.

Lokalisation und klinische Nachweisbarkeit der Harnröhrenkondylome

Bezüglich der Lokalisationsverteilung von HPV-Effloreszenzen der männlichen Harnröhre entsprechen unsere Ergebnisse weitgehend denen anderer Studiengruppen. Wie auch in den Studien von Graversen et al., Aynaud et al., Rothmann et al., Mc Kenna und Mc Millian [3, 39, 69, 89], waren die Kondylome zu über 90% im Bereich des Meatus und/oder der Fossa navicularis lokalisiert. Proximale Harnröhrenabschnitte waren dagegen sehr selten, in unserer Studie in nur 4,8%, von urethralen Kondylomen betroffen [3, 39, 69, 89]. Interessanterweise konnte dabei nie ein isolierter Befall der proximalen Urethra gefunden werden, stets waren auch gleichzeitig noch distale Abschnitte der Urethra von Kondylomen betroffen.

Unter Berücksichtigung unserer Untersuchungsergebnisse ist eine gründliche Inspektion des Meatus urethrae externus bei Männern und Frauen mit genitalen HPV-Effloreszenzen im Rahmen der Untersuchung des äußeren Genitale zu fordern. Während sich durch manuelle digitale Spreizung des Meatus die ersten 4-5 mm der distalen Urethra einsehen lassen, können durch Verwendung eines Spekulums oder eines speziell dafür entwickelten Harnröhrenspreizers [3] die ersten 2 cm der distalen Urethra eingesehen werden [8]. Wie wir in unserer Studie zeigen konnten, können durch eine mechanische Meatusspreizung, die eine Einsicht der ersten 2 cm der distalen Urethra erlaubt, ca. 80% aller Harnröhrenkondylome diagnostiziert werden. Dennoch entzogen sich in unserer Studie 20% der urethralen Kondylome durch ihre Lage einer Diagnostik von außen, was den Ergebnissen früherer Studien entspricht [97, 98].

Bei Vorliegen von Effloreszenzen im einsehbaren distalen Bereich der Urethra sollte eine weitere Abklärung durch eine Urethroskopie erfolgen. Um eine iatrogene Virusverschleppung in proximale Harnröhrenabschnitte zu verhindern,

sollte dies allerdings erst nach Sanierung der distalen HPV-Effloreszenzen erfolgen. Eine Empfehlung zur routinemäßigen endoskopischen Abklärung der Urethra, findet sich in den aktuellen nationalen [43, 99] und internationalen [20, 113] diagnostischen und therapeutischen Richtlinien für HPV-Infektionen der Anogenitalregion nicht mehr.

Bei klinisch unauffälligem Meatus ist eine Urethroskopie nicht indiziert, da, wie auch in unserer Studie gezeigt werden konnte, proximale urethrale Kondylome ohne gleichzeitige HPV-Effloreszenzen des Meatus urethrae externus oder der Fossa navicularis Raritäten darstellen [99, 110, 114]. Aufgrund der in der Harnblase für die Virusreplikation ungeeigneten Epithelbedingungen, ist eine Urethrozystoskopie ebenfalls nicht indiziert. Eine Ausnahme bilden dabei immunsupprimierte Patienten, bei denen bereits Kondylome in der Harnblase gefunden wurden [26, 82, 99].

Therapiemodalitäten urethraler Kondylome

Für die Therapie subklinischer und klinischer HPV-Effloreszenzen der Urethra werden zahlreiche Therapien eingesetzt. Man unterscheidet medikamentöse Therapieformen, zu denen die antimitotischen (Podophyllin, Podophyllotoxin, 5-Floururacil), die kaustischen (Trichloressigsäure) und die immunmodulatorischen (Interferon, BCG) Therapien zählen, von chirurgischen Therapien. Hierzu zählen Kryotherapie, Exzision, Elektrokoagulation und Lasertherapie (Nd:YAG Laser, CO_2-Laser).

Unter diesen Therapieverfahren hat sich der Laser aufgrund seiner exakten Steuerbarkeit, der guten kosmetischen Ergebnisse und nicht zuletzt niedrigeren Rezidivraten in den letzten Jahren immer stärker durchgesetzt, so dass die Laserbehandlung von HPV-Effloreszenzen der Urethra heute als Mittel der Wahl gilt [94].

Wie sich bei unserem Patientengut zeigt, wird die Primärbehandlung der urethralen HPV-Effloreszenzen dabei entweder von Dermatologen, Urologen oder

Hausärzten durchgeführt. Aufgrund fehlender fachübergreifender Therapierichtlinien richtet sich die Art der gewählten Therapie dabei nach den Erfahrungen und der apparativen Ausstattung des Arztes. Dabei ist auffallend, dass bei der Therapie der urethralen Kondylome oft kein Unterschied zur Therapie externer genitaler Kondylome gemacht wird und die Überweisung zur fachspezifischen Weiterbehandlung der urethralen Kondylome erst bei Versagen der Primärbehandlung oder Auftreten von Komplikationen erfolgt [96].

Die Verwendung der dabei eingesetzten antimitotischen Substanzen wird in der Literatur kontrovers diskutiert [20, 97, 99, 113]. Die medikamentöse Behandlung urethraler Kondylome mit Podophyllin [23], Colchicin [37], Thiopeta [46] und 5-Floururacil [26, 28], wurde in den 1960er und 1970er Jahren, in Ermangelung wenig invasiver chirurgischer Therapieformen, oftmals unter Inkaufnahme schwerer Nebenwirkungen (Epithelnekrosen, Meatitis, Dysurie, Strikturbildung) durchgeführt. Allerdings werden diese, aus heutiger Sicht nicht mehr empfehlenswerten Behandlungsmethoden [43], weiterhin eingesetzt wie die multiplen Vorbehandlungen unseres Patientengutes mit 5-Floururacil, Podophyllin und Podophyllotoxin zeigen.

Insbesondere das wegen seiner hohen Toxizität bei Resorption [73, 93] nicht mehr zur Therapie genitaler Warzen empfohlene Podophyllin [113] stellt eine bei unseren Patienten häufig durchgeführte ambulante medikamentöse Therapieform dar.

Neben der nur relativ ungezielten Möglichkeit der Applikation der Substanzen bleibt beim Einsatz dieser Medikamente oftmals die Tatsache unberücksichtigt, dass keines der für die HPV-Therapie am äußeren Genitale verwendeten Medikamente in Deutschland, aber auch in vielen anderen Ländern, für die Anwendung in der Urethra zugelassen ist [67]. Komplikationen nach Anwendung dieser Substanzen liegen demnach in alleiniger Verantwortung des Anwenders, was aus forensischer Sicht aufgrund der zum heutigen Zeitpunkt zur Verfügung stehenden effektiveren und international anerkannten Alternativmethoden (z.B. Lasertherapie) nicht unproblematisch ist [102]. Eine ventrale Urethrotomie, zur

offenen Sanierung der urethralen Kondylome, ist bei heute möglicher endoskopischer Sanierbarkeit nicht mehr zu rechtfertigen [96].

Lasertherapien urethraler Kondylome

Unter Berücksichtigung der zur Lasertherapie urethraler Kondylome vorhandenen Literatur finden sich sehr widersprüchliche Berichte über die Sanierungserfolge urethraler Kondylome, wie in Tabelle 12 dargestellt.

Autor	Lokalisation HPV-Effloreszenz	Laser	Anzahl Patienten [n]	Anzahl Behand-lungen [n]	Prim. Sanie-rungsrate [%]	Follow-up [Mo]	Klin. Effl.	Subklin. Effl.
[85]	Meatus/dist. Urethra	CO_2	22	>1 (2)	87	2	+	
[92]	Ges. Urethra	Nd:YAG	7	>1	57	6-60 (21)	+	
[57]	Ges. Urethra	CO_2 Elektro-kauterisation	74	>1	25-78	14-34	+	
[39]	Ges. Urethra	CO_2 Nd:YAG	56	>1 (1-17)	48	5	+	
[3]	Ges. Urethra	CO_2 Nd:YAG	141	>1 (2)	66-88	6-12	+	
[97]	Ges. Urethra	Nd:YAG	105	>1 (1-6)	52	12	+	
[119]	Ges. Urethra	Nd:YAG	168	>1 (1-4)	64	12	+	+

Tabelle 12: Lasertherapien urethraler Kondylome.

Die Unterschiede bezüglich der Sanierungserfolge und der Rezidivraten in den jeweiligen Studien sind dabei im Rahmen der divergierenden Behandlungs-parametern der verschiedenen Lasersysteme und der oft nicht standardisierten Bewertungskriterien zu sehen.

Bereits bei der Diagnostik der urethralen Kondylome zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den Studien. Während in einer Studie lediglich die durch mechanische Meatusspreizung nachweisbaren Kondylome therapeutisch berück-sichtigt werden [85], erfolgt die diagnostische Abklärung der Urethra in den übrigen Studien, wie auch in unserer Studie, durch eine Urethroskopie [3, 39, 57, 97, 119].

Zudem zeigen sich in der Art der gewählten Therapieform zwischen den Studien erhebliche Unterschiede, was einen Vergleich der Sanierungsraten erschwert. Der von uns erzielte primäre Sanierungserfolg von 59,8% ist vergleichsweise gut und entspricht dem anderer Studien mit Verwendung eines Nd:YAG Lasers im Bereich der gesamten Urethra [97, 119]. Aufgrund der fehlenden endoskopischen Einsatzmöglichkeit des CO_2-Laser [95], der zur Sanierung der meatalen Kondylome oder der durch Meatusspreizung erreichbaren Kondylome eingesetzt wird, erfolgt in einigen Studien die Sanierung von Kondylomen proximal der Fossa navicularis entweder durch Elektrokauterisation oder den Nd:YAG Laser [3, 39, 57]. Insgesamt gesehen, weisen dabei Studien, mit Verwendung des CO_2-Lasers in Kombination mit einem anderen chirurgischen Verfahren, niedrigere Sanierungsraten auf [3, 39, 57] als Studien, in denen alle Effloreszenzen mit dem Nd:YAG Laser behandelt wurden [92, 97, 119]. Dieser Unterschied mag in der unterschiedlichen Wirkungsweise der Lasersysteme begründet sein. Die Wirkung des Nd:YAG Laser beruht auf einer Volumenabsorption der Laserlichtenergie, wodurch es zu einer leistungsabhängigen Tiefenwirkung mit Koagulation des Gewebes kommt [50]. Demgegenüber wird die Laserenergie des CO_2-Laser bereits in oberflächlichen Gewebsschichten nahezu vollständig absorbiert, was zu einer Verdampfung des Gewebes (Vaporisation) und Verkohlung (Carbonisation) führt, ohne dass es zur Ausbildung einer entsprechenden Tiefenwirkung kommt [94]. Die durch die Koagulation des Nd:YAG Lasers und Vernarbung erzielte Schichtungsstörung des Epithels bietet dabei möglicherweise ungünstige Vorraussetzungen für eine Virusvermehrung [101], da die Bildung reifer Virionen streng mit der Keratinozytendifferenzierung im Plattenepithel assoziert ist [83]. Diese Vermutung wird durch Untersuchungen unterstrichen, in denen gezeigt werden konnte, dass es nach Behandlung mit dem CO_2-Laser in bis zu 67% zum Auftreten von HPV Rezidiven in Lasernarben und deren Rand kommt [32], wohingegen andere Studiengruppen nach Behandlung mit dem Nd:YAG Laser in Lasernarben keine Rezidive beobachten konnten [101].

Bezüglich der in den Studien gewählten Nachbeobachtungszeiträume zeigen sich Schwankungen zwischen 2 Wochen [85] und 34 Monaten [57], wobei Studien mit kurzem Follow-up-Intervall [85] bezüglich ihrer Sanierungsrate besser abschneiden als solche mit langem Follow-up-Intervall [3, 57, 97, 119]. Des

Weiteren ist der angegebene Behandlungserfolg häufig abhängig von der zugrundeliegenden Untersuchungsart. So zeichnen sich einige Studien durch fehlende standardisierte Follow-up-Untersuchungen aus. Die Vorstellung des Patienten und die Untersuchung erfolgt hier erst beim Vorliegen von Symptomen [39, 85]. Wie wir in unserer Studie zeigen konnten, stellt dies aufgrund des zum einen oftmals asymptomatischen Verlaufs von Harnröhrenkondylomen, zum anderen hohen Anteil von Rezidivkondylomen, die sich ohne Endoskopie einer Diagnostik von außen entziehen, kein geeignetes Vorgehen zur Rezidiverkennung dar.

Rezidive urethraler HPV Läsionen

Rezidive urethraler Kondylome, die verglichen mit denen externer genitaler Kondylome deutlich häufiger auftreten, stellen ein bisher ungelöstes Problem dar [69]. Auch in unserer Studie musste sich ca. ein Drittel der Patienten aufgrund von Rezidiven der urethralen Kondylome bis zur klinischen Sanierung wiederholten Laserbehandlungen unterziehen, was den Ergebnissen anderer Studiengruppen entspricht [39, 97, 119].

Das Auftreten der Rezidive wird dabei entweder am Rand des behandelten Areals oder in vom Behandlungsgebiet entfernteren Lokalisationen beobachtet [6, 11, 43, 113]. Während erstere als Folge einer ungenügenden Therapie angesehen werden, handelt es sich bei den letztgenannten um neuaufgetretene Läsionen, die der durchgeführten Behandlungsmethode primär nicht angelastet werden können. Für den Patienten aber bedeuten sie dennoch ein Versagen der durchgeführten Behandlung.

Neben einer möglichen Reinfektion durch eine unzureichend behandelte oder neue, infizierte Partnerin, werden unzureichend behandelte klinische Läsionen, nicht behandelte subklinische Läsionen oder in der Urethra vorhandene latente Infektionen als Ursachen urethraler Rezidive angesehen.

Obwohl der laborchemische Nachweis von HPV-DNA sowie der zytologische Nachweis von Koilozyten im Urin und Ejakulat von Männern [40, 58] ohne klinisch nachweisbare urethrale Kondylome das Vorhandensein subklinischer und latenter Infektionen in der Urethra nahe legte, gelang es erst durch die ALA-induzierte photodynamische Diagnostik der Urethra subklinische Effloreszenzen der Urethra nachzuweisen und einer Therapie zuzuführen [98, 100]. Die Überlegenheit dieser Methode bezüglich der sekundären Rezidivrate, im Vergleich zu früheren Studien, ist zum einen auf die zusätzliche Behandlung subklinischer Effloreszenzen, zum anderen auf die genauere Erfassung der Ausdehnung und Lokalisation der urethralen klinischen HPV-Effloreszenzen zurückzuführen. Dies konnte in mehreren Studien bestätigt werden [98, 119].

Einen weiteren wichtigen Entstehungsmechanismus urethraler Rezidive stellen möglicherweise multifokal bestehende, latente Infektionen der Urethra dar, wie sie auch am äußeren Genitale beschrieben werden [30, 90]. Arbeitsgruppen, die sich mit latenten HPV-Infektionen in der Umgebung klinischer HPV-Effloreszenzen beschäftigen, konnten zeigen, dass latente HPV-Infektionen mehr als 1 cm von der ursprünglichen Läsion entfernt, auftreten können [30].

Des Weiteren scheinen auch Kontaktinfektionen zwischen den aneinander liegenden Schleimhautoberflächen der Urethra einen wichtigen Übertragungsweg von HPV-Infektionen darzustellen. Diese These wird durch die Ergebnisse einer Studie untermauert, in der sich 40% der verzeichneten urethralen Rezidive kontralateral zu den therapierten HPV-Effloreszenzen befanden [119].

Die Kontamination medizinischer Instrumente mit HPV-DNA konnte eindeutig belegt werden [31] und stellt somit einen weiteren Vektor der Infektionsausbreitung dar. Die bei unseren Patienten vermehrt in proximaleren Abschnitten der Urethra lokalisierten Rezidive sind somit als Ausdruck einer iatrogenen Virusverschleppung zu werten.

Zeitraum des Auftretens von Rezidiven

Der Zeitraum bis zum Auftreten der Rezidive nach initialer Lasertherapie lag im Schnitt bei 5,3 Monaten (Median 3 Monate) und damit etwas höher als in der Literatur angegeben [39, 57, 119]. Bezüglich des empfohlenen Nachbeobachtungszeitraums sollte dem Umstand Rechnung getragen werden, dass in unserer Studie erst im Laufe eines Jahres 90% der Rezidive manifest wurden. Um möglichst viele Rezidive zu diagnostizieren, sind regelmäßige Nachuntersuchungen daher über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr zu fordern. Diese Beobachtung wurde von anderen Arbeitsgruppen bestätigt [119].

Einfluss von Behandlungsanzahl auf die Sanierungsrate

Des Weiteren konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass die Sanierungsrate im 12-Monats Follow-up unabhängig von der zuvor durchgeführten Behandlungsanzahl und -dauer ist. Patienten mit vielen Rezidiven und Vorbehandlungen in der Anamnese hatten letztlich die gleiche Wahrscheinlichkeit, nach der Lasertherapie wieder an urethralen Kondylomen zu erkranken, wie Patienten, die erstmalig wegen urethraler Kondylome durch eine Lasertherapie behandelt wurden. Zur gleichen Feststellung kamen Arbeitsgruppen, die diesen Zusammenhang für HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales untersucht haben [49, 62]. Dieser Zusammenhang unterstreicht die von anderen Arbeitsgruppen geäußerte Vermutung, dass die Therapie von HPV-Läsionen zwar zu einer vorübergehenden klinischen Erscheinungsfreiheit führt, für die dauerhafte Erscheinungsfreiheit des Patienten letztlich jedoch sein Immunsystem verantwortlich ist [112].

HPV-Status in der 4-Jahres Follow-up Untersuchung

In den bislang zur Lasertherapie urethraler HPV-Effloreszenzen veröffentlichen Studien wurde die Sanierungsrate allein anhand von klinischen Gesichtspunkten festgelegt [3, 39, 57, 85, 92, 97, 119]. Vergleiche mit der bislang veröffentlichten

Literatur zu HPV-Infektionen der männlichen Urethra fallen schwer, da sich in Abhängigkeit der verwendeten Nachweismethode und der untersuchten Studienpopulation starke Schwankungen ergeben. Screeninguntersuchungen an gesunden Soldaten konnten bei 17% der Studienpopulation HPV-DNA in Urethralabstrichen nachweisen [52]. Bei Männern mit anogenitalen HPV-Effloreszenzen konnte HPV-DNA in der Urethra in 22-33% nachgewiesen werden [47, 88]. Angaben bezüglich eines langfristigen urethralen Sanierungserfolges im Sinne einer HPV-DNA Elimination in der Urethra, nach durchgeführter Lasertherapie, fehlen in der Literatur bislang. In der vorliegenden Arbeit wurden die Patienten erstmalig unter dem Gesichtspunkt einer viralen HPV-Sanierung der Urethra nach einem Follow-up Intervall von 4 Jahren nach initialer Lasertherapie untersucht.

Im Rahmen der in unserer Studie durchgeführten Nachuntersuchung konnte bei 27% der Patienten durchschnittlich 4 Jahre nach Lasertherapie HPV-DNA in der Urethra im Sinne einer ausschließlich latent vorliegenden Infektion nachgewiesen werden.

Der hohe Prozentsatz nachgewiesener latenter HPV-Infektionen im Bereich der Urethra, ohne dass es auch viele Jahre nach Lasertherapie zum Auftreten von Rezidiven kam, legt nahe, dass im Behandlungsgebiet möglicherweise eine durch die Nd:YAG Lasertherapie hervorgerufene virale Kontrolle besteht. Untermauert wird diese These durch Ergebnisse einer Arbeitsgruppe, die für HPV-Effloreszenzen des äußeren Genitales zeigen konnte, dass im Bereich der Lasernarben zwar latente HPV-Infektionen bestehen, es in diesem Bereich jedoch auch viele Jahre nach Lasertherapie zu keiner Rezidiventwicklung kommt [101]. Ursächlich hierfür könnte zum einen die durch den Nd:YAG Laser hervorgerufene Schichtungsstörung des laserkoagulierten Epithels sein, da die DNA-Replikation, Proteinsynthese und Bildung reifer Virionen streng mit der Differenzierung der Keratinozyten im Plattenepithel assoziiert ist [83, 105]. Zum anderen könnte die durch die Lasertherapie hervorgerufene lokale Entzündungsreaktion zu einer lokalen Aktivierung des Immunsystems führen, so dass latent persistierende HPV-Infektionen an der Bildung klinischer und subklinischer Effloreszenzen gehindert werden [101]. Diese These wird von Untersuchungen gestützt, die die Bedeutung

des Immunsystems in der Entstehung, Persistenz und Remission von HPV-Effloreszenzen des Genitale nachweisen konnten [104]. Eine generalisierte Immunantwort, welche zu einer Beseitigung der HPV-Infektionen im Bereich des gesamten Genitales führt, kann durch die Nd:YAG Lasertherapie nicht erreicht werden, da es sonst nicht bei 29% unserer Patienten zum Auftreten von subklinischen und/oder klinischen HPV-Efflorszenzen hätte kommen dürfen. Aber auch medikamentöse Therapieformen, mit denen eine generalisierte Aktivierung des Immunsystems induziert werden sollte (Interferone, BCG), zeigten sich bislang wenig effektiv in der Verhinderung von urethralen Rezidiven [12, 64].

Der Zusammenhang zwischen den weitläufig in Genitale nachgewiesenen latenten Infektionen, als Ausgangspunkt für Rezidive, ist inzwischen allgemein anerkannt. Latente Infektionen der Urethra stellen daher weiterhin ein ungelöstes therapeutisches Problem dar, da sie einerseits als potentielles Reservoir für rezidivierende HPV-Infektionen des Genitales und der Urethra, andererseits als Reservoir für Partnerinfektionen [106] dienen.

Indikationen zur Behandlung von klinischen und subklinischen HPV-Effloreszenzen der Urethra

Obwohl über eine Spontanremission von Condylomata acuminata in bis zu 30% der Fälle berichtet wird, neigen HPV-Effloreszenzen unbehandelt oftmals zu Vergrößerung und Ausbreitung [59]. Anogenitale Warzen führen nicht selten zu Juckreiz, Schmerzen und Kontaktblutungen [43]. Insbesondere Harnröhren-kondylome rufen im Vergleich zu Kondylomen der äußeren Genitalhaut häufiger Beschwerden hervor [97], wie es auch bei unseren Patienten der Fall war. Neben funktionellen Beschwerden, wie z.B. Miktionsbeschwerden, können Warzen im Genitalbereich des Weiteren zu einer starken psychischen Belastung des Patienten im Sinne von Dyspareunie, Krebsangst und Angst vor Fertilitätsverlust führen [67].

Condylomata acuminata gelten als benigne Hauttumore und werden in mehr als 90% durch die HPV-Genotypen 6 und 11 hervorgerufen [83, 114]. Da diese HPV-

Genotypen der Low-Risk Gruppe in der Regel nicht zu Zellentartungen führen [106], werden diese HPV-Effloreszenzen von vielen Kollegen in erster Linie als rein kosmetisches Problem angesehen [97]. Allerdings werden, wie auch in der vorliegenden Arbeit, zu einem geringen Prozentsatz in diesen HPV-Läsionen High-Risk Typen nachgewiesen [59, 78, 108].

Weitaus häufiger werden High-Risk Typen jedoch in subklinischen Läsionen der Urethra [100] oder, wie in unserer Arbeit dargestellt, in latenten Infektionen der Urethra nachgewiesen [59].

Urethrale Karzinome sind sehr selten und meistens in der proximalen Urethra lokalisiert, so dass ein kausaler Zusammenhang mit HPV-Infektionen der männlichen Urethra bislang noch nicht nachgewiesen werden konnte [117]. Aus diesem Grund scheint der Nachweis von High-Risk Typen in der Urethra für den Mann, eine eher untergeordnete Bedeutung zu haben.

Demgegenüber sind High-Risk Typen nachgewiesenermaßen mit cervikalen intraepithelialen Neoplasien und cervikalen Carcinomen assoziiert [32, 115]. Da sowohl klinische als auch subklinische Läsionen der Urethra als infektionsfähig angesehen werden [59], stellen nicht nur urethrale Kondylome, sondern auch subklinische Effloreszenzen der Urethra ein Reservoir für Partnerinfektionen dar [100].

Im Gegensatz zu klinischen Effloreszenzen der Urethra, deren Behandlung in nationalen und internationalen Richtlinien allgemein anerkannt ist [20, 43, 99, 113], wird die Behandlung subklinischer HPV-Effloreszenzen kontrovers diskutiert.

Während einige Arbeitgruppen die Behandlung subklinischer Effloreszenzen aufgrund der starken Assoziation mit High-Risk Typen sowie des gehäuften Auftretens von intraepithelialen Neoplasien befürworten [55, 97, 99], sehen andere Arbeitsgruppen keine Indikation für die Behandlung subklinischer Effloreszenzen, da dadurch weder der Krankheitsverlauf beeinflusst, noch die Prognose des Sexualpartners geändert werden soll [32, 43, 59]. Die Tatsache, dass verschiedene Studien keinen Einfluss der Therapie auf die Partnerinfektionsrate

bzw. den Krankheitsverlauf gefunden haben [56, 67], könnte in der vermutlich bereits vor Therapiebeginn vollzogenen Ansteckung begründet sein [59].

Zusammenfassend sollten subklinische Effloreszenzen in einer bestehenden Partnerschaft behandelt werden, um progrediente Epitheldysplasien zu verhindern. Bezüglich einer zukünftigen Partnerin könnte eine adäquate Therapie klinischer und subklinischer urethraler Effloreszenzen des Mannes die Infektion und Entwicklung von cervikalen Neoplasien verhindern [55].

HPV-Typenspektrum der Urethra

Bisher verwendete Verfahren zur Untersuchung des HPV-Typenspektrum der Urethra waren In-Situ-Hybridisierung, Southern Blot-Hybridisierung und die PCR [5, 27, 34, 47, 53, 78, 88, 108, 120]. Die Identifizierung der HPV-Genotypen erfolgte dabei entweder durch Hybridisierung mit typspezifischen Sonden oder Sequenzierung, so dass die Anzahl der nachgewiesenen HPV-Genotypen durch die Anzahl der verwendeten Sonden oder die Sequenzierung einzelner HPV-Typen begrenzt war. Die bislang veröffentlichten Angaben zum HPV-Typenspektrum der Urethra beruhen daher auf Studien mit limitiertem Typennachweis oder auf Einzelfallbeschreibungen. Im Gegensatz dazu war es mit Hilfe des in der vorliegenden Studie verwendeten Verfahrens der PCR mit RFLP-Analyse und Hybridisierung möglich, nahezu alle heute bekannten HPV-Genotypen zu identifizieren. Auf diese Weise konnte das HPV-Typenspektrum der Urethra anhand von Urethralabstrichen und repräsentativen Probebiopsien aus klinischen Effloreszenzen untersucht werden.

In der vorliegenden Studie konnten insgesamt 12 verschiedene HPV-Genotypen in der Urethra sowie 13 verschiedene HPV-Genotypen im Bereich des äußeren Genitales nachgewiesen werden. In über der Hälfte aller nachgewiesenen HPV-Genotypen der Urethra handelte es sich dabei um High-Risk Typen. HPV-DNA der sog. High-Risk Typen fand sich in 32% der positiven Urethralabstriche.

Was die klinischen Effloreszenzen der Urethra und des äußeren Genitales angeht, so wurden am häufigsten Low-Risk Typen 6, 11 nachgewiesen. Allerdings konnten auch in unserer Studie High-Risk Typen 31, 34 in den klinischen HPV-Effloreszenzen der Urethra und des äußeren Genitales nachgewiesen werden. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen [78, 108]. Wie durch andere Studien nachgewiesen werden konnte, finden sich in subklinischen Effloreszenzen des äußeren Genitales und der Urethra vermehrt High-Risk Typen [103]. Unter Berücksichtigung unserer Ergebnisse, sowie derer anderer Studien, kann somit aufgrund des klinischen Aussehens der HPV-Effloreszenz nicht auf den zugrundeliegenden HPV-Typ geschlossen werden.

Bei insgesamt 10 Patienten wurde HPV-DNA im Urethralabstrich nachgewiesen, ohne dass sich klinische oder subklinische HPV Effloreszenzen im Bereich der Urethra fanden. Im Rahmen dieser latenten Infektionen der Urethra wurden insgesamt 8 verschiedene HPV-Genotypen 6, 16, 18, 31, 37, 52, 58, CP 6108 gefunden. Im Gegensatz zu den klinischen Effloreszenzen der Urethra konnten hier Low-Risk und High-Risk Typen annähernd gleich häufig nachgewiesen werden. Der im Vergleich zu klinischen Effloreszenzen erhöhte Anteil an High-Risk Typen in asymptomatischen HPV-Infektionen stimmt mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen überein [7, 47].

Bei insgesamt 12 Patienten unseres Patientengutes konnte eine HPV-Infektion sowohl der Urethra als auch des äußeren Genitales festgestellt werden. Interessanterweise ergab sich eine Übereinstimmung der HPV-Genotypen zwischen der Urethra und des äußeren Genitales bei nur 4 Patienten. Bei dem übereinstimmenden HPV-Genotyp handelte es sich bei allen Fällen um den Low-Risk Typ 6, der sowohl in den urethralen Kondylomen der Patienten als auch in Rezidiven am äußeren Genitale und/oder dem unauffälligen Kontrollareal des äußeren Genitales nachgewiesen wurde. Da der HPV-Genotyp 6 bereits in mehreren Studien als dominierender Typ in klinischen Rezidiven der Urethra und des äußeren Genitales nachgewiesen wurde, erstaunt dieses Ergebnis nicht [78, 108]. Vielmehr müsste durch repräsentativere Studien geklärt werden, ob die in unserer Studie fehlende Übereinstimmung der im Rahmen der latenten Infektionen am äußeren Genitale und der Urethra nachgewiesenen Genotypen, durch die

Vielzahl der am Genitale gleichzeitig vorliegenden HPV-Infektionen und die fehlende Nachweismöglichkeit aller vorliegenden HPV-Genotypen begründet liegt, oder ob der Verteilung möglicherweise Unterschiede im Epitheliotropismus der verschiedenen mukosaassozierten HPV-Genotypen zugrunde liegen.

Des Weiteren konnten im Rahmen der vorliegenden Studie neben den typischen, mukosaassozierten HPV-Genotypen insgesamt drei als kutan geltende, Epidermodysplasia verruciformis (EV) assoziierte HPV-Typen [42, 45] im Bereich des Genitale nachgewiesen werden. EV-assoziierte HPV-Typen wurden bisher in benignen und malignen Läsionen der äußeren Haut bei EV-Patienten, Transplantatempfängern und immunkompetenten Personen festgestellt. Des Weiteren konnte EV-HPV in Form einer latenten Infektion in Probebiopsien klinisch unauffälliger Haut [2] sowie im Bereich des äußeren Genitales [101] immunkompetenter Personen nachgewiesen werden. Daneben scheint auch, wie in unserem Fall, eine Infektion der Urethra durch EV-HPV möglich. Da die Bedeutung von EV-HPV in der Urethra zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht geklärt ist, bedarf es weiterer epidemiologischer Studien. Um kutane EV-HPV aufdecken zu können, sind jedoch äußerst sensitive Nachweismethoden mit nested-PCR-Technik wie z.B. mit den von Berkhout et al. [9] entwickelten degenerierten Konsensus-Primern notwendig.

Im Rahmen der urologischen und dermatologischen Partner- und Routineuntersuchungen spielen HPV-Typisierungen, wegen der bislang ungeklärten prognostischen Bedeutung und der fehlenden therapeutischen Konsequenz, keine Rolle. Sie bleiben allein wissenschaftlichen epidemiologischen Fragestellungen vorbehalten [103]. Demgegenüber kann in der Gynäkologie der subgruppenspezifische HPV-DNA Nachweis, der eine Zuordnung zu Low-Risk- oder High-Risk Typen ermöglicht, in der Differentialdiagnose unklarer zytologischer Befunde hilfreich sein [43].

Stellung des Viroaktiv-Test in der Diagnostik urethraler HPV Effloreszenzen

Als Screeninguntersuchungen auf urethrale HPV-Infektionen des Mannes wurden bisher zytologische Nachweisverfahren im Urin [65], in Urethralabstrichen [5, 13, 17, 36, 87] sowie spezifische Verfahren zum Nachweis von HPV-DNA in Urin und Urethralabstrichen [1, 27, 34, 35, 51, 71] eingesetzt.

Im Gegensatz zu HPV-DNA Nachweisen in Urin und Urethralabstrichen, bei denen zwischen latenten und aktiven, klinisch relevanten HPV-Infektionen nicht unterschieden werden kann, besteht der Vorteil des Testverfahrens Viroaktiv™ im ausschließlichen Nachweis von aktiven Stadien der Virusvermehrung [76]. Ferner verbleibt das Kapsidprotein durch Erhalt der Morphologie der Zelle im Zellkern und wird nicht, wie für die HPV-DNA Nachweise (PCR, Hybrid Capture) üblich, auf das gesamte Probenvolumen verteilt und dadurch verdünnt, was zu falsch negativen Ergebnissen führen kann [76]. Bei dem kommerziell erhältlichen Test Viroaktiv™ handelt es sich um ein hochspezifisches Verfahren, zum Nachweis von HPV-Antigenen mittels monoklonaler Antikörper, welches bislang in der Diagnostik und Typisierung von HPV-Infektionen des weiblichen Genitale eingesetzt wurde [76]. Grundlage des Testsystems bilden monoklonale Antikörper, die gegen typspezifische Bereiche des Kapsidproteins L1 gerichtet sind [91]. Neben homologen Bereichen der Proteinsequenz von L1, die bei allen Papillomaviren sehr ähnlich ist, ist eine genaue Einteilung und Zuordnung der einzelnen HPV-Typen über typspezifische Bereiche innerhalb der Proteinsequenz möglich [70].

Vergleicht man unsere Ergebnisse mit denen der bisher durchgeführten Screeninguntersuchungen, so zeigt sich bei dem in unserer Studie verwendeten Testverfahren Viroaktiv™ eine vergleichsweise niedrige Sensitivität, da nur 2 von 8 Patienten mit urethralen Kondylomen (25%) durch das Testverfahren erkannt wurden.

In vorausgehenden Studien konnte HPV-DNA in Urinproben von männlichen Patienten mit Meatuskondylomen in 88% [71], von männlichen Patienten mit urethralen Kondylomen in 76% [51] und auch in Urinproben von Armeesoldaten in 5% [34] durch PCR nachgewiesen werden. Während der Miktion gelangen HPV-

infizierte Zellen durch Exfoliation aus dem Epithel der Urethra oder des Meatus in den Urin [51, 71]. Eine mögliche Ursache der niedrigen Sensitivität unseres Testverfahrens könnte darin gegründet sein, dass bei unseren Patienten mit urethralen Kondylomen nicht ausreichend HPV-infizierte Zellen durch den Urinstrahl exfoliiert wurden. Erste Hinweise ergaben sich bereits bei der mikroskopischen Begutachtung der aus den Urinsedimenten angefertigten Präparate unserer Patienten, in denen Epithelzellen nur spärlich vorhanden waren. Diese These wird von Arbeitsgruppen gestützt, die sich mit dem Nachweis von HPV-DNA im Ejakulat beschäftigten [58] und ebenfalls nur sehr wenig exfoliierte HPV-infizierte Zellen in ihrem Probenmaterial nachweisen konnten.

Was die Gewinnung des Probenmaterials und die Urinvolumina angeht, so unterscheiden sich die Studien von Melchers et al. und Forslund et al. nicht von unserer Studie, da sie ebenfalls Erststrahlurinproben mit durchschnittlichen Volumen von 100 ml untersuchten [34, 71]. Demgegenüber wurden in der von Geddy et al. durchgeführten Studie, in der keine HPV-DNA im Urin von 73 männlichen Patienten gefunden werden konnte, Erststrahlurinproben mit einem Volumen von 20 ml verwendet. [35]. Eine sichere Aussage, inwiefern die Volumina der Proben das Zellvorkommen im Urin beeinflussen, ist anhand der o.g. durchgeführten Studien zum Nachweis einer HPV-Infektion im Urin nicht möglich, da sich dort keine Angaben zur Quantität an im Urin vorhandenen urethralen Epithelzellen finden [34, 35, 71]. Hinweise, dass die Verwendung von Morgenurinproben zu einer höheren Zellzahl im Urin führen würde, finden sich in der von Nakazawa et al. durchgeführten Untersuchung, der in der mikroskopischen Begutachtung seiner Sedimentpräparate Zellzahlen von 3x104 Zellen pro Präparat fand [74].

Eine Verbesserung der epithelialen Zellzahl aus der Urethra könnte auch durch Verwendung eines Cyto-Brush Abstriches erzielt werden, wie bereits in Partneruntersuchungen HPV-infizierter Frauen gezeigt werden konnte [17, 27]. Aufgrund dieser Überlegung diente ein bei Patient Nr. 6 durchgeführter Urethralabstrich als Positivkontrolle unseres Testverfahrens. Das negative Ergebnis des Urethralabstriches, bei positivem Nachweis von HPV im Sedimentaustrich der Spülflüssigkeit, sehen wir im Rahmen der Tatsache, dass

durch einen Urethralabstrich nur die ersten 2-3 cm der Urethra erreicht werden, wohingegen durch Urin Zellen aus der gesamten Urethra exfoliiert und gewonnen werden.

In einer Studie von Levine et al., die Urinproben auf zytologische Veränderungen untersuchte, zeigte sich, dass charakteristische Indikatoren einer HPV-Infektion, Koilozyten, nur sehr vereinzelt im Urin nachweisbar sind [65]. Diese Beobachtung wurde durch andere Arbeitsgruppen bestätigt [5, 13]. Als Ursache hierfür wird das Epithel der Urethra angesehen, bei dem eine HPV-Infektion, selbst wenn es zu einer Plattenepithelmetaplasie kommt, nicht zur Ausbildung der charakteristischen Koilozyten führt [22]. In einer von Boon et al. durchgeführten Studie konnte durch immunzytochemische Untersuchungen an Urethralabstrichen gezeigt werden, dass sowohl Urothelzellen als auch Plattenepithelzellen durch HPV infiziert werden können [13]. Die Art der exfoliierten Zellen scheint somit nicht ausschlaggebend für die niedrige Nachweisrate unseres Testverfahrens zu sein.

Bisher verwendete Verfahren zum Nachweis von HPV-DNA im Urin und Urethralabstrichen waren PCR gefolgt von Southern Blot Hybridisierung oder Elektrophorese mit Ethidium Bromid Färbung [27, 34, 35, 51, 71, 74]. Aufgrund der hohen Sensitivität der Verfahren konnten so auch kleine Mengen an HPV-DNA in den exfoliierten Zellen nachgewiesen werden. Demgegenüber liegt die Nachweisgrenze für ein positives Signal bei dem im Rahmen unserer Studie verwendeten Testverfahren bei ca. 5000 Viruskopien [76]. Die hohe Anzahl an falsch negativen Ergebnissen im Rahmen unserer Untersuchung könnte nicht zuletzt durch eine zu niedrige Anzahl von Viruskopien in den untersuchten Zellen begründet sein.

Nebenbefundlich fanden sich zytoplasmatische Anfärbungen in drei als negativ befundeten Präparaten sowie in einem Präparat, welches auch eine nukleäre Farbreaktion, im Sinne eines positiven Testergebnisses zeigte. Kapsidproteine der humanen Papillomaviren werden im Zytoplasma der Zelle hergestellt und anschließend in den Zellkern transportiert [63]. In den Herstellerangaben ist, bei starker Expression des Proteins, neben der Färbung des Zellkerns die Möglichkeit einer zusätzlichen Anfärbung des Zytoplasmas beschrieben, in dessen Rahmen

wir das Färbemuster unseres positiven Präparates sehen. Des Weiteren wurde von Burns et al., im Rahmen ihrer Untersuchungen über das Vorhandensein von HPV-DNA im Zytoplasma berichtet [15]. Als Grundlage der dabei beobachteten zytoplasmatischen Anfärbungen der Cervixzellen werden Viruspartikel angesehen, welche sich auf ihrem Weg in oder aus dem Zellkern befinden. Diese zytoplasmatischen Anfärbungen konnten von einer anderen Arbeitsgruppe auch für Urothel- und Plattenepithelzellen gefunden werden [13]. Unspezifische zytoplasmatische Färbungen werden zudem in Lymphozyten beobachtet, wenn Infekte oder Entzündungsreaktionen nachweisbar sind. Bedingt sind diese Färbungen durch zytoplasmatische Vesikel, die Peroxidase-Moleküle enthalten. Dieser Mechanismus könnte möglicherweise auch die in unserer Untersuchung beobachteten zytoplasmatischen Färbungen erklären.

Zytologische Untersuchungen von Urin oder Urethralabstrichen sind aufgrund ihrer niedrigen Spezifität nicht als Screeninguntersuchung auf urethrale HPV-Infektionen geeignet [5]. Screeningmethoden, die den Nachweis von HPV-DNA in Urin beinhalten, können nicht zwischen latenten und klinisch aktiven behandlungsbedürftigen HPV-Infektionen unterscheiden. Das im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Testverfahren Viroaktiv™ eignet sich aufgrund der nachgewiesenen niedrigen Sensitivität, nicht zur Diagnostik urethraler HPV-Infektionen im Urin. Inwiefern eine Änderung der Probenentnahme (z.B. Morgenurinproben) oder der Untersuchungsart (z.B. Urethralabstriche) zu einer Erhöhung der Sensitivität führen würde, müsste durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Zum aktuellen Zeitpunkt stellt somit die gründliche klinische Untersuchung mit manueller Meatusspreizung, gefolgt von einer PDD-gestützten Urethroskopie, die Methode der Wahl zur Diagnostik subklinischer und klinischer HPV-Effloreszenzen der Urethra dar.

5 Zusammenfassung

Humane Papillomaviren sind weltweit die häufigsten Erreger sexuell übertragbarer Viruserkrankungen. HPV-Infektionen der männlichen Harnröhre kommt dabei ein besonderer Stellenwert zu, da sie einerseits als Reservoir für die Besiedelung des äußeren Genitales infrage kommen, andererseits als Ausgangspunkt für Partnerinfektionen anzusehen sind.

Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, liegt bei 29% der Patienten mit Kondylomen des äußeren Genitales auch eine Beteiligung der Urethra vor. Hierbei erwies sich insbesondere die Gruppe der vorbehandelten Patienten als besonders gefährdet urethrale Kondylome zu entwickeln. Ein Einfluss des Zirkumzisionsstatus auf die Entwicklung urethraler Kondylome konnte hingegen nicht gefunden werden. Der Stellenwert einer klinischen Untersuchung des Genitales mit manueller Meatusspreizung konnte durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstrichen werden, da 81% der urethralen Kondylomen bei Erstuntersuchung des Patienten durch diese Untersuchungsmethode nachgewiesen werden konnten. Was die Lokalisationsverteilung der urethralen Kondylome betrifft, so ist hervorzuheben, dass in der vorliegenden Arbeit ein isolierter Befall der proximalen Urethra, ohne dass stets auch noch distale Abschnitte der Urethra betroffen waren, nicht gefunden werden konnte. Diese Tatsache sollte in der klinischen Untersuchung von Patienten mit Kondylomen des äußeren Genitales dahingehend berücksichtigt werden, dass erst bei Nachweis urethraler Kondylome im Rahmen der manuellen Meatusspreizung eine weitere Abklärung der Urethra durch Urethroskopie durchgeführt werden sollte. Im Rahmen der Nachuntersuchungen der Patienten in der vorliegenden Arbeit zeigte sich ferner, dass sich Rezidivkondylome vermehrt in proximaleren Harnröhrenabschnitten (17%) befinden, was als Ausdruck einer iatrogenen Virusverschleppung zu werten ist. Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, sank dadurch die klinische Nachweisbarkeit urethraler Rezidivkondylome durch manuelle Meatusspreizung auf 68% ab.

Bei 59,8% der Patienten mit urethralen Kondylomen gelang eine Sanierung unter klinischen Gesichtpunkten durch eine einmalige Lasertherapiesitzung. Bei den übrigen Patienten kam es, im Median nach 3 Monaten, zum Auftreten von Rezidiven. Dabei traten 90% der Rezidive innerhalb der ersten 12 Monate nach initialer Lasertherapie auf. Dies unterstützt die Notwendigkeit klinischer Kontrolluntersuchungen nach Lasertherapie urethraler Kondylome, über die Dauer von 12 Monaten.

In einer Follow-up Untersuchung, welche im Durchschnitt 4 Jahre nach initialer Lasertherapie der urethralen Kondylome erfolgte, konnte gezeigt werden, dass eine vollständige virale Clearance nur bei 38% der Patienten erzielt werden konnte. Der hohe Anteil der in der vorliegenden Studie im Rahmen der Follow-up Untersuchung nachgewiesenen latenten Infektionen der Urethra legt nahe, dass auch im Bereich der Urethra, analog zum Genitoanalbereich, multilokuläre latente HPV-Infektionen vorliegen. Die Tatsache, dass im Rahmen der Follow-up Untersuchung bei 29% der Patienten erneut klinische und/oder subklinische Effloreszenzen der Urethra oder des äußeren Genitales gefunden wurden, unterstreicht die Vermutung, dass durch eine Lasertherapie keine Induktion der körpereigenen Immunität gegen HPV mit dem Erfolg kompletter Viruselimination eintritt. Vielmehr scheint die Lasertherapie sehr effektiv in der lokalen Sanierung der HPV-Effloreszenzen zu sein, was für den Bereich der Urethra jedoch durch weitere Studien an urethralen Lasernarben zu klären wäre.

Mit Hilfe einer systematischen HPV-Genotypenanalyse konnte in der vorliegenden Studie mit sensitivsten Labormethoden eine große HPV-Typenvielfalt und auch das Vorliegen Epidermodysplasia verruciformis-assoziierter HPV-Genotypen im Bereich der Urethra nachgewiesen werden.

Die Behandlung von Kondylomen des männlichen Genitale wird aktuell durch Kollegen verschiedener Fachrichtungen durchgeführt. Zur Abklärung urethraler klinischer und subklinischer Effloreszenzen stehen bislang nur invasive Verfahren (Urethroskopie, PDD) zur Verfügung, welche dem urologischen Arzt vorbehalten sind. Screeningtests für Männer mit urethralen Kondylomen, welche eine Aussage

über die Infektiosität und damit die notwendigen weiteren therapeutischen Maßnahmen anzeigen, existieren bisher nicht.

Im Rahmen der vorliegende Arbeit wurde erstmalig ein Viruscapsidnachweis im Urin als Screeninguntersuchung bei Männern mit urethralem Kondylombefall untersucht. Hierbei zeichnete sich das untersuchte Testverfahren durch eine unzureichende Sensitivität aus, so dass eine Anwendung in der Routinediagnostik nicht empfohlen werden kann. Zum aktuellen Zeitpunkt stellt die Urethroskopie mit PDD somit bislang die einzige Möglichkeit zu Abklärung subklinischer und klinischer HPV-Effloreszenzen der Urethra dar.

6 Literaturverzeichnis

1. Astori G, Pipan C, Muffato G, Botta GA. Detection of HPV DNA in semen, urine and urethral samples by dot blot and PCR. *New Microbiol*. 1995; 18(2): 143-149

2. Astori G, Lavergne D, Benton C, Hockmayr B, Egawa K, Garbe C, de Villiers EM. Human papillomaviruses are commonly found in normal skin of immuncompetent hosts. *J Invest Dermatol*. 1998; 110:752-755

3. Aynaud O, Casanova J.M., Barasso R. Nouvelles techniques ambulatoires de détection et de traitements des condylomes urétraux chez l`homme. *J d`Urol*. 1991; 97:29-32

4. Aynaud O, Piron G, Bijaoui G, Casanova JM. Developmental factors of urethral human papillomavirus lesions: correlation with circumcision. *BJU International*. 1999; 84:57-60

5. Aynaud O, Ionesco M, Barrasso R. Cytologic detection of human papillomavirus DNA in normal male urethral samples. *Urology*. 2003; 61(6):1098-1101

6. Baker GE, Tyring SK. Therapeutic approaches to papillomavirus infections. *Infect Dis Dermatol*. 1997; 15:331-340

7. Barasso R, de Brux J, Croissant O, Orth G. High prevalence of papillomavirus-associated penile intraepithelial neoplasia in sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *N Eng J Med.* 1987; 317:916-923

8. Barasso R, Gross G. Urethra: diagnosis and treatment. In Gross G, Barasso R (eds). Human papillomavirus infection. A clinical atlas. *Ullstein-Mosby*, Berlin, Wiesbaden, 1997: 379-386

9. Berkhout RJ, Tieben LM, Smits HL, Bavinck JN, Vermeer BJ, ter Schegget J. Nested-PCR approach for detecting and typing of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus types in cutaneous cancers from renal transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 1995; 33:690-695

10. Beutner KR, Tyring S. Human papillomavirus and human disease. *Am J Med*. 1997; 102(5A):9-15

11. Beutner KR, Ferenczy A. Therapeutic approaches to genital warts. *Am J Med*. 1997; 102(5A): 28-37

12. Boehle A, Doehn C, Kausch I, Jocham D. Treatment of recurrent penile condylomata acuminata with external application and intraurethral instillation of Bacillus calmette-guerin. *J Urol*.1998;160:394-396

13. Boon M, Schneider A, Hogewoning CJA, van der Kwast TH, Bolhuis P, Lambrecht P Kok. Penile studies and heterosexual partners: peniscopy, cytology, histology and immunocytochemistry. *Cancer*. 1988; 61:1652-1659

14. Brown DR, Fife KH. Human papillomavirus infections of the genital tract. *Med Clin North Am.* 1990; 74:1455-1485

15. Burns J, Graham AK, Frank C, Fleming KA, Evans MF, Mc Gee JO´D. Detection of low copy human papilloma virus DNA and mRNA in routine paraffin sections of cervix by non-isotopic in situ hybridisation. *J Clin Pathol*. 1987; 40:858-864

16. Castellsague X, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjose S, Eluf-Neto J, Ngelangel CA, Chichareon S, Smith JS, Herrero R, Moreno V, Franceschi S. Male circumcision, penile human papillomavirus infection and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med.* 2002; 346(15):1105-12

17. Cecchini S, Cipparone I, Confortini M, Scuderi A, Meini L, Piazzesi G. Urethral cytology of cytobrush specimens: a new technique for detecting subclinical human papillomavirus infection in men. *Acta Cytologica*.1987; 32:314-317

18. Chang S-Y, Delius H, Halern AL, Bernard H-U. Analysis of genomic sequences of 95 papillomaviruses types: uniting typing, phylogeny and taxonomy. *J Virol*. 1995; 69:3074-3083

19. Chuang T-Y, Perry HO, Kurland LT, Illstrup DM. Condyloma acuminatum in Rochester, Minn. 1950-1978. I:Epidemiology and clinical features. *Arch Dermatol.* 1984; 120: 469-475.

20. Clinical effectiveness group (association of genitourinary medicine an the medicalsociety for the study of venereal diseases). National guideline for the management of anogenital warts. *Sex Transm Inf*. 1999; 75:71-75

21. Cook LS, Koutsky LA, Holmes KK. Circumcision and sexually transmitted diseases. *Am J Public Health*. 1994; 84:197-201

22. Crum CP, Egawa K, Fu YS et al. Atypical immature metaplasia (AIM). A subset of human papillomavirus infection of the cervix. *Cancer.* 1983; 51:2214-2219

23. Culp OS, Magid MA, Kaplan IW. Podophyllin treatment of condylomata acuminata. *J Urol*. 1944; 51: 655-659

24. De Villiers EM, Schneider A, Gross G, zur Hausen H. Analysis of benign and malignant urogenital tumors for human papillomavirus infection by labelling cellular DNA. *Med Microbiol Immunol.* 1986; 174:281-286

25. Dean P, Lancaster WD, Chun B, Jenson B. Human papillomavirus structural antigens in squamous papillomas of the male urethra. *J Urol*. 1983; 129:873-875

26. Debenedictis TJ, Marmar JL, Praiss DE. Intraurethral condylomata acuminata: management and a review of the literature. *J Urol*. 1977; 118: 767-769

27. Della Torre G, Donghi R, de Campos Lima PO, Pasquini G, Pilotti S, Koronel R, Pierotti MA, de Palo G, della Porta G, Rilke F. Human papillomavirus genomes in male urethral cells. *AJP*. 1992; 141:1181-1186

28. Dretler SP, Klein LA. The eradication of intraurethral condyloma acuminata with 5 per cent 5-flourouracil cream*. J Urol.* 1975; 113:195-198

29. Dunn AEG, Ogilvie MM. Intranuclear virus particles in human genital wart tissue: observation on the ultrastructure of the epidermal layer. *J Ultrastructure Res.* 1968; 22:282-285

30. Ferenczy A, Mitao M, Nagai N, Silverstein SJ, Crum CP. Latent papillomavirus and recurring genital warts*. N Eng J Med*. 1985; 313: 784-788

31. Ferenczy A, Bergeron C, Richart RM. Human papillomavirus DNA in fomites on objects used for the management of patients with genital human papillomavirus infections. *Obstet Gynecol*. 1989; 74:950-954

32. Ferency A. Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata acuminata. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172:1331-1339

33. Fife KH, Ferenzy A, Douglas JM, Brown DR, Smith M, Owens ML. Treatment of external genital warts in men using 5% imiquimod cream applied three times a week, once daily, twice daily, or three times a day. *Sex Transm Dis.* 2001; 28:226-231

34. Forslund O, Hansson BG, Rymark P, Bjerre B. Human papillomavirus DNA in urine samples compared with that in simultaneously collected urethra and cervix samples. *J Clin Microbiol*. 1993; 31:1975-1979

35. Geddy PM, Wells M, Lacey CJN. Lack of detection of human papillomavirus DNA in male urine samples. *Genitourin Med*. 1993; 69:276-279

36. Giacomini G, Bianchi G, Moretti D. Detection of sexually transmitted diseases by urethral cytology, the ignored male counterpart of cervical cytology. *Acta Cytologica.* 1989; 33:11-15

37. Gigax JH, Robinson JR. The successful treatment of intraurethral condyloma acuminata with colchicine. *J Urol. 1971*; 105:809-811

38. Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (condylomata accuminata). *Int J Cancer*. 1980; 25:605-609

39. Graversen PH, Bagi P, Rosenkilde P. Laser treatment of reccurent urethral condylomata acuminata in men. *Scand J Urol Nephrol*. 1990; 24: 163-165

40. GreenJ, Monteiro E, Bolton VN, Sanders P, Gibson PE. Detection of human papillomavirus DNA by PCR in semen from patients with or without penile warts. *Genitourin Med*. 1991; 67:207-210

41. Gross G, Pfister H, Seidl S, Stegner HE (Hrsg.). Genitale Infektionen durch Papillomviren. München, Bern, Wien, New York: *Zuckschwerdt*, 1992

42. Gross G, Barasso R (eds.). Human papillomavirus infection: a clinical atlas. Berlin, Wiesbaden: *Ullstein Mosby*, 1997

43. Gross G. Condylomata acuminata und andere HPV-assoziierte Krankheitsbilder des Genitale und der Harnröhre. Leitlinie der Deutschen STD Gesellschaft (DSTDG). *Hautarzt*. 2001; 52:405-410

44. Gross G. Klinik und Therapie anogenitaler Warzen und papillom-virusassoziierter Krankheitsbilder. *Hautarzt*. 2001; 52:6-17

45. Grußendorf-Conen EI, Schwarz E. Viruswarzen an Haut und Schleimhaut: Erreger, Klinik, Therapie. Berlin, Wien: *Blackwell Wissenschafts-Verlag*, 1995

46. Halverstadt DB, Parry WL. Thiotepa in the management of intraurethral condylomata accuminata. *J Urol*. 1969; 101:729-731

47. Hillmann RJ, Botcherby M, Ryait BK, Hanna N, Taylor-Robinson D. Detection of human papilloma virus DNA in the urogenital tracts of men with anogenital warts. *Sex Transm Dis*. 1993; 20:21-27

48. Hippeläinen M, Yliskoski M, Saarikoski S, Syrjänen S, Syrjänen K. Genital human papillomavirus lesions of the male sexual partners: the diagnostic accuracy of peniscopy. *Genitourin Med*. 1991; 67:291-296

49. Hippeläinen MI, Hippeläinen M, Saarikoski S, Syrjänen K. Clinical course and prognostic factors of human papillomavirus infections in men. *Sex Transm Dis*. 1994; 21(5):272-279

50. Hofstetter A (Hrsg.). Laser in der Urologie. Eine Operationslehre. Berlin, Heidelberg, New York: *Springer*, 1995

51. Iwasawa A, Hiltunen-Back E, Reunala T, Nieminen P, Paavonen J. Human papillomavirus DNA in urine specimens of men with condyloma acuminatum. *Sex Transm Dis*. 1997; 24(3):165-167

52. Kataoka A, Claesson U, Hansson U, Hansson BG, Eriksson M, Lindh E. Human papillomavirus infection of the male diagnosed by Southern-blot hybridization and polymerase chain reaction: comparison between urethra samples and penile biopsy samples. *J Med Virol*. 1991; 33:159-164

53. Katelaris PM, Cossart YE, Rose BR, Thompson CH, Sorich E, Nightingale B, Dallas PB, Morris BJ. Human papillomavirus: The untreated male reservoir. *J Urol*. 1988; 140:300-305

54. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med*. 1997; 102(5A):3-8

55. Krebs HB. Management of human papillomavirus-associated genital lesions in men. *Obstet Gynecol*. 1989; (73):312-316

56. Krebs HB, Helmkamp BF. Treatment failure of genital condylomata acuminata in women: role of the male sexual partner. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 165:337-339

57. KroghJ, Beuke H.P, Miskowiak J, Honnes de Lichtenberg M, Nielsen OS. Long-term results of carbon dioxide laser treatment of meatal condylomata acuminata. *Brit J Urol*.1990; 65:621-623

58. Kyo S, Inoue M, Koyama M, Fujita M, Tanizawa O, Hakura A. Detection of high-risk human papillomavirus in the cervix and semen of sex partners. *JID*. 1994; 170: 682-685

59. Lacey CJN, Fairley I. Medical therapy of genital human papilloma virus-related disease. *Int J STD AIDS*. 1995; 6:399-407

60. Lai YM, Yang FP, Pao CC. Human papillomavirus deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid in seminal plasma and sperm cells. *Fertil Steril*. 1996; 65:1026-1030

61. Lai YM, Lee JF, Huang HY, Soong YK, Yang FP, Pao CC. The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. *Fertil Steril*. 1997; 67:1152-1155

62. Lassus J, Happonen HP, Niemi KM, Ranki A. Carbon dioxide (CO_2)-laser therapy cures macroscopic lesions, but viral genome is not eradicated in men with therapy-resistant HPV infection. *Sex Transm Dis*. 1994; 21(6):297-302

63. Laurent R, Agache P, Coume-Marquet J. Ultrastructure of clear cells in human viral warts. *J Cutan Pathol*. 1975; 2:140-148

64. Levine LA, Eltermann L, Rukstalis D. Treatment of subclinical intraurethral human papillomavirus infection with interferon alfa-2b. *Urology*. 1996; 47(4):553-557

65. Levine RU, Crum CP, Herman E, Silvers D, Ferenczy A, Richart RM. Cervical papillomavirus infection and intraepithelial neoplasia: a study of male sexual partners. *Obstet Gynecol*.1984; 64(1):16-20

66. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells*. 1989; 7:209-14

67. Maw RD, Reitano M, Roy M. An international survey of patients with genital warts: perceptions regarding treatment and impact on lifestyle. *Int J STD AIDS*. 1998; 9:571-578

68. Mc Cance DJ, Campion MJ, Baram A, Singer A. Risk of transmission of human papillomavirus by vaginal specula. *Lancet*. 1986; 2:816-817

69. Mc Kenna JG, Mc Millian A. Managment of intrameatal warts in men. *Int J STD AIDS*. 1990; 1:259-263

70. Mc Murray HR, Nguyen D, Westbrook TF, Mc Cance D. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Pathol*. 2001; 82:15-33

71. Melchers WJG, Schift R, Stolz E, Lindeman J, Quint WGV. Human papillomavirus detection in urine samples from male patients by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1989, 27(8):1711-1714

72. Meyer T, Arndt R, Stockfleth E, Flammann HT, Wolf H, Reischl U. Strategy for typing human papillomaviruses by RFLP analysis of PCR products and subsequent hybridization with a generic probe. *Biotechniques*. 1995; 19:632-639

73. Montaldi DH, Giambrone JP, Courey NG, Taefi P. Podophyllin poisoning associated with the treatment of condyloma acuminatum: a case report. *Am J Obstet Gynecol.* 1974; 119:1130-1131

74. Nakazawa A, Inoue M, Fujita M, Tanizawa O, Hakura A. Detection of human papillomavirus type 16 in sexual partners of patients having cervical cancer by polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res*. 1991; 82: 1187-1190

75. Nathan PM, Thompson VC, Sharmacharja G, Hawkswell J, Fogarty B. A study of prevalence of male intrameatal warts using meatoscopy in a genitourinary medicine department. *Int J STD AIDS*. 1995; 6:184-187

76. Neumann G, Kohlhoff M. Neues Testsystem zum Nachweis und zur Typisierung von aktiven HPV-Infektionen. *Gyn*. 2001; 6:294-300

77. Nindl I, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Pfister H, Wieland U, Meyer T, Stockfleth E, Klaes R, von Knebel, Doeberitz M, Schneider A, Duerst M. Interlaboratory agreement of different human papillomavirus DNA detection and typing assays in cervical scrapes. *Cancer.* 1999; 81(4):666-668

78. O`Brien WM, Jenson AB, Lancaster WD, Maxted W. Human papillomavirus typing of penile condyloma. *J Urol.* 1989; 141:863-865

79. Oriel JD.Natural history of genital warts. *Brit J Vener Dis*. 1971; 47: 1-13

80. Orth G, Favre M, Croissant O. Characterization of a new type of human papillomavirus that causes skin warts. *J Virol*. 1977; 24:108-120

81. Ostrow RS, Zachow KR, Niimura M, Okagaki T, Muller S, Bender M, Faras AJ. Detection of papillomavirus DNA in human semen. *Science*. 1986; 231: 731-733

82. Pettersson, Hansson G, Blohme I. Condyloma acuminatum of the bladder. *J Urol.* 1976; 115:535-536

83. Phelps WC, Alexander KA. Antiviral therapy for human papilomaviruses: rationale and prospects. *Ann Intern Med*. 1995; (123):368-382

84. Rintala MA, Pöllänen P, Nikkanen V, Grenman S, Syrjänen S. Human papillomavirus DNA is found in the vas deferens. *J I D.* 2002; 185:1664-1667

85. Rosemberg SK, Jacobs H, Fuller T. Some guidelines in the treatment of urethral condylomata with carbon dioxide laser. *J Urol*. 1982; 127:906-908

86. Rosemberg SK, Greenberg MD, Reid R. Sexually transmitted papillomaviral infection in men. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1987; 14:495-512

87. Rosemberg SK, Husain M, Herman GE, Elfont EA. Sexually transmitted papillomaviral infection in the male: VI. Simultaneous urethral cytology-virapap testing of male consorts of women with genital human papillomaviral infection. *Urology*. 1990; 36(1):38-41

88. Rosemberg SK. Sexually transmitted papillomaviral infection in men. An update. *Dermatol Clin*. 1991; 9:317-331

89. Rothmann I, Berger R.E., Kiviat N, Navarro A.L., Remington M.L. Urethral meatal warts in men: results of urethroscopy and biopsy. *J Urol*. 1994; 151:875-877

90. Rymark P, Forslund O, Hansson BG, Lindholm K. Genital HPV infection not a local but a regional infection: experience from a female teenage group. *Genitourin Med*. 1993; 69:18-22

91. Sapp M , Kraus U, Volpers C, Snijders PJF, Walboomers JM, Streeck RE. Analysis of type-restricted and cross reactive epitopes on virus-like particles of human papillomavirus type 33 and infected tissue using monoclonal antibodies to the major capsid protein. *J Gen Virol*. 1994; 75:3375-3383

92. Schilling A, Böwering R, Keiditsch E. Use of the Nd:YAG laser in the treatment of ureteral tumors and urethral condylomata acuminata. *Eur Urol*. 1986; 12:30-33

93. Schirren CG. Schwere Allgemeinvergiftung nach örtlicher Anwendung von Podophyllinspiritus bei spitzen Condylomen. *Hautarzt*. 1966; 17: 321-322

94. Schneede P, Hofstetter A. Laserstrahlen zur Behandlung von HPV-Effloreszenzen. *Lasermedizin*. 1992; 8:202-205

95. Schneede P, Muschter R. Laseranwendung bei Condylomata acuminata. *Urologe A* 1994; 33:299-302

96. Schneede P, Fink HU, Muschter R, Hofstetter A. Laser-Urethrotomie zur Behandlung von Strikturen und koinzidenten HPV-Infektionen der distalen Harnröhre. *Lasermedizin*. 1996, 12:103-107

97. Schneede P, Münch P, Ziller F, Hofstetter A. Harnröhrenkondylome: Eine therapeutische Herausforderung. *Hautarzt* 2001; 52: 411-417

98. Schneede P, Münch P, Wagner S, Meyer T, Stockfleth E, Hofstetter A. Flourescence urethroscopy following instillation of 5-aminolevulinic acid: A new procedure for detecting clinical and subclinical HPV lesions of the urethra. *JEADV*. 2001; 15:121-125

99. Schneede P, Hofstetter A. Diagnostik und Therapie von Genitalerkrankungen durch Humane Papillomviren (HPV). Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Urologie (DGU). *Urologe A.* 2001; 40:511-20

100. Schneede P, Leunig A, Hillemanns P, Wagner S, Hofstetter A. Photodynamic investigation of mucosa-associated human papillomavirus efflorescences. *BJU Int*. 2001; 88(1):117-119

101. Schneede P, Meyer T, Ziller F, Stockfleth E, Arndt R, Hofstetter A. Clinical and viral clearance of human papillomavirus (HPV)-associated genital lesions by Nd:YAG-laser Treatment. *Med Laser Appl.* 2001; 16:38-42

102. Schneede P, Hofstetter A. Humane Papillomviren (HPV) in der Urologie. Teil II: 10-Jahres-Bewertung differenzierter HPV Therapie. *Urologe A*. 2002; 41:32-37

103. Schneede P, Hillemanns P, Hofstetter A. Humane Papillomaviren (HPV) in der Urologie. Teil I: 10-Jahres-Ergebnisse interdisziplinärer HPV-Diagnostik. *Urologe A*. 2002; 41:26-31

104. Schneede P. Genital human papillomavirus infections. *Curr Opin Urol*. 2002; 12:57-61

105. Stanley MA. Virus keratinocyte interactions in the infectious cycle. In: Stern PL, Stanley MA, eds. Human papillomavirus and cervical cancer-biology and immunology. *Oxford University Press*, Oxford. 1994; 116-131

106. Stone KM. Human papillomavirus infection and genital warts: update on epidemiology and treatment. *Clin Infect Dis.* 1995; 20:91-97

107. Syrjänen KJ. Epidemiology of human papillomavirus (HPV) infections and their associations with genital squamous cell cancer. *APMIS*.1989; 97:957-970

108. Syrjänen SM, von Krogh G, Syrjänen KJ. Detection of human papillomavirus DNA in anogenital condylomata in men using in situ DNA hybridisation applied to paraffin sections. *Genitourin Med*. 1987; 63:32-9

109. Tang CK, Shermeta DW, Wood C. Congenital condyloma acuminata. Am J *Obstet Gynecol*. 1978; 131:912-913

110. Thin RN. Meatoscopy: a simple technique to examine the distal anterior urethra in men. *Int J STD AIDS*. 1992; 3:21-23

111. van Ranst M, Kaplan JB, Burk RD. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J Gen Virol*. 1992; 73:2653-2660

112. Vardy DA, Baadsgaard O, Hansen ER, Lisby S, Vejlsgaard GL. The cellular immune response to human papillomavirus infection. *Int J Dermatol*. 1990; 29:603-610

113. von Krogh G, Lacey CJN, Gross G, Barasso R, Schneider A. European course on HPV associated pathology:guidelines for primary care physicians for the diagnosis and managment of anogenital warts. *Sex Transm Inf*. 2000; 76:162-168

114. von Krogh G. Management of anogenital warts (condylomata acuminata). *Eur J Dermatol.* 2001; 11:598-603

115. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189 (1):12-19

116. World Health Organisation. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: human papillomaviruses. Lyon, France: *IARC*. 1995; 64:277-82

117. Wiener JS, Liu ET, Walther PJ. Oncogenic human papillomavirus typ 16 is associated with squamous cell cancer of the male urethra. *Cancer Res*. 1992; 52:5018-5023

118. Wikström A, Popescu C, Forslund O. Asymtomatic penile HPV infection: a prospective study. *Int J STD AIDS*. 2000; 11:80-84

119. Zaak D, Hofstetter A, Frimberger D, Schneede P. Recurrence of condylomata acuminata of the urethra after conventional and fluorescence-controlled Nd:YAG laser treatment. *Urology*. 2003; 61(5):1011-1015

120. Zderic SA, Carpiniello VL, Malloy TR, Rando RF. Urological applications of human papillomavirus typing using deooxyribonucleic acid probes for the diagnosis and treatment of genital condyloma. *J Urol*. 1989; 141:63-65

121. zur Hausen H. Papillomaviruses in human cancer. *Cancer* 1987; 59: 1692-1696

122. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:690-698

7 Abkürzungen

BCG	Bacillus Calmette Guerin
bp	Basenpaare
$C0_2$	Kohlendioxid
cw	Continuous wave
DNA	Dexoxyribonukleinsäure
EV	Epidermodysplasia verruciformis
HPV	Humanes Papillomvirus
LMU	Ludwig-Maximilians Universität
min	Minute
ml	Milliliter
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
Nd:YAG	Neodymium:Yttrium-Aluminium-Granat
nm	Nanometer
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDD	Photodynamische Diagnostik
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
sek	Sekunde
SDS	Natriumdodecylsulfat
STD	Sexual transmitted disease
U	Unit
WHO	World Health Organisation

8 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD. Dr. P. Schneede für die Überlassung des Dissertationsthemas. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich insbesondere für seine engagierte und hervorragende Betreuung.

Frau B. Ganzmann danke ich für Ihre Unterstützung bei der Probenverarbeitung und dem –versand.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. R. Hilfrich (Fa. Virofem Diagnostica GmbH, Wiesbaden) sowie Herrn Dr. T. Meyer (Institut für Immunologie, Pathologie und Molekularbiologie, Hamburg) für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Herrn Dr. F. Ziller und Herrn O.A. Schmidt OStD i.R. danke ich für das Korrekturlesen.

Meinen Eltern und insbesondere Michael Schlick danke ich für die liebevolle und motivierende Unterstützung sowie den festen Glauben an das Gelingen, in allen Phasen der Dissertation.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Carolin Bouveret
Geburtsdatum/-ort	11.12.1974 in Würzburg
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Familienstand	Ledig

Schulbildung

09/81-07/85	Grundschule Giebelstadt
09/85-07/94	Siebold-Gymnasium Würzburg (Abitur)

Studium

10/94-04/00	Studium der Humanmedizin an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
04/00-05/01	Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München

Ärztliche Prüfungen

08/96	Ärztliche Vorprüfung
08/97	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
04/00	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
05/01	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Famulaturen

02/97-03/97	Anästhesie, Asklepios Nordseeklinik Sylt
02/98-03/98	Gynäkologie, AK Altona Hamburg
03/99-04/99	Innere Medizin, AK Altona Hamburg
07/99-08/99	Innere Medizin, Dr. med. K. Hartleib, Würzburg

Praktisches Jahr

04/00-06/00	Thoraxchirurgie, Klinikum rechts der Isar, München

06/00-08/00	Plastische Chirurgie, Klinikum rechts der Isar, München
08/00-10/00	Kardiologie, Klinikum rechts der Isar, München
10/00-12/00	Gastroenterologie, Klinikum rechts der Isar, München
12/00-03/01	Dermatologie, Universitätsspital Zürich

Ärztin im Praktikum

10/01-01/02	Klinik für Dermatologie und Venerologie, Friedrich-Alexander Universität, Erlangen
03/02-08/03	Klinik für Dermatologie und Venerologie, Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin

Assistenzärztin

Seit 09/03	Klinik für Dermatologie und Venerologie, Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin

Berlin, den 30. November 2006

Carolin Bouveret