

Aus der Klinik für Frauenheilkunde, Geburtsmedizin und Reproduktionsmedizin
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. E.-F. Solomayer

**Altersspezifische Charakterisierung der zervikalen intraepithelialen Neoplasie Grad 3
(CIN3) mittels epidemiologischer, morphologischer, virologischer und
molekularbiologischer Verfahren**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2019**

vorgelegt von: Christine Neis, geb. am: 08.11.1983 in Homburg/Saar

Kolloquium

Tag der mündlichen Prüfung: 30.06.2020

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ingolf Juhasz-Böss
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Vogt

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Zusammenfassung deutsch – englisch	5
2. Einleitung	9
2.1 Aktueller Stand des Wissens zur Früherkennung von Gebärmutterhalskrebs	9
2.2 Differentialzytologie der Zervix	10
2.3 Zytologische Bilder der CIN1, CIN2 und CIN3	12
2.4 Histologie	13
2.5 Zervixkarzinomscreening in Deutschland ab 1971	13
2.6 HPV-Infektion und Karzinogenese	16
2.7 HPV-Diagnostik	18
2.8 Genotypisierung	20
2.9 Biomarker	20
2.9.1 CINtec plus p16/Ki67	20
2.9.2 L1	21
2.10 Impfung	23
2.11 Fragestellung	23
3. Material und Methodik	25
3.1 Kolposkopie-Sprechstunde - Ablauf und prospektive Erfassung der Daten	25
3.2 Pseudonymisierung, Ethikvotum	28
3.3 Epidemiologie und Altersverteilung der CIN3	28
3.4 Zytologie	28
3.5 HPV-Diagnostik	28
3.6 Genotypisierung	29
3.7 Biomarker	29
3.7.1 CINtec plus p16/Ki67	29
3.7.2 L1	29
3.8 Histologie	29
3.9 Dokumentation	29
3.10 Literaturrecherche	30
4. Ergebnisse	31
4.1 Zytologie	31
4.2 Epidemiologie und spezifische Verteilung	32
4.3 HPV-Diagnostik	34
4.3.1 HR HP-Viren	34
4.3.2 HPV-Genotypen 16/18/45	35
4.4 Biomarker	35

4.4.1	CINtec plus p16/Ki67	35
4.4.2	L1-Kapsidprotein	36
4.5	Kombination der Biomarker CINtec plus p16/Ki67, sowie L1	36
4.6	Sonderauswertung	37
4.6.1	HR HPV negativ	37
4.6.2	CINtec plus p16/Ki67 negativ	38
4.6.3	L1 positiv	39
4.6.3.1	Altersspezifische Verteilung L1 positiv	39
4.6.4	Ko-Test	39
5.	Diskussion	41
6.	Literaturverzeichnis	56
7.	Danksagung	64
	Geplante Publikationen	65
8.	Lebenslauf	66

Abkürzungsverzeichnis

AGC	atypical glandular cells
AGCPC	Arbeitsgemeinschaft Zervix-Pathologie und Kolposkopie
AIS	Adenokarzinoma in situ/ glanduläre intraepitheliale Neoplasie
ASCUS	atypical squamous cells of undetermined significance
ASC – H	atypical squamous cells, cannot exclude high-grade lesions
ca.	circa
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie
CIN1	zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 1
CIN2	zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 2
CIN3	zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 3
CINtec plus	Biomarker p16/Ki67
CIS	Carcinoma in situ
DKG	Deutschen Krebsgesellschaft
FDA	U.S. Food and Drug Administration deutsche Behörde für Lebens- und Arzneimittel
G-BA	Gemeinsamer Bundesausschuss
HC2-Test	Hybrid Capture 2 HPV-DNA-Test®
HPV	humanes Papillomavirus
HR HPV	high-risk HPV
HSIL	high grade squamous intraepithelial lesions
ICC	invasives Zervixkarzinom
IQWiG	Institutes für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
Ki67	Antigen Ki (=Kiel) 67
Ko-Test	Kombinations-Test
L1	L1-Kapsidprotein
LBC	Liquid-Based-Cytology
LEEP	Loop Electrosurgical Excision Procedure
Lj.	Lebensjahr
LLETZ	Large Loop Excision of the Transformation Zone
LR-HPV	low-risk-HPV
LSIL	low grade squamous intraepithelial lesions
München III	Münchener Nomenklatur III
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
p16	p16-Protein
RKI	Robert-Koch-Institut
UK	United Kingdom
vs.	versus
WHO	World Health Organization

1. Zusammenfassung deutsch - englisch

Altersspezifische Charakterisierung der zervikalen intraepithelialen Neoplasie Grad 3 (CIN3) mittels epidemiologischer, morphologischer, virologischer und molekularbiologischer Verfahren

Das Zervixkarzinom-Screening ist die erfolgreichste Methode, welche jemals zur Senkung der Inzidenz einer malignen Erkrankung entwickelt wurde. Sie beruht darauf, dass nicht das Karzinom selbst, sondern deren Vorläufer frühzeitig entdeckt und behandelt werden. Zielläsion ist der unmittelbare Vorläufer des invasiven Zervixkarzinoms (ICC) die zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 3 (CIN3). Mit Hilfe der Zytodiagnostik ist es von 1971 bis heute gelungen die Inzidenz des ICC in Deutschland um 75%, in der Gruppe der Frauen die regelmäßig am Screening teilnehmen, sogar um 90% zu senken. In den letzten Jahren werden neben der zytologischen Diagnostik zunehmend auch virologische und molekularbiologische Methoden eingesetzt, welche ebenfalls geeignet sind, die CIN3 zu detektieren.

In Deutschland wird derzeit die Früherkennung des Gebärmutterkrebses neu strukturiert, wobei die oben genannten Parameter, insbesondere der HPV-Test in das Screening integriert werden. Vor diesem Hintergrund ist es nötig, bezogen auf die CIN3, die Performance von Zytologie, HPV-Test, sowie der molekularbiologischen Verfahren, welche bislang vorwiegend in industriefinanzierten Studien untersucht wurden, auch unter „Real-World“-Bedingungen in einem Versorgungslabor zu evaluieren.

In der vorliegenden Arbeit werden 300 Fälle, welche histologisch als CIN3 beschrieben wurden, entsprechend einer Screening-Population von 175.000 Frauen, epidemiologisch dargestellt, sowie mit allen derzeit kommerziell zur Verfügung stehenden morphologischen, virologischen und molekularbiologischen Verfahren untersucht. Zusätzlich erfolgte eine altersspezifische Analyse. Das Material zur Zytodiagnostik, zur Erstellung des HPV-Testes, sowie zur Bestimmung der molekularbiologischen Parameter, wurden im Rahmen einer Dysplasie-Sprechstunde gewonnen. Hier erfolgte auch die gezielte Biopsie für eine histologische Diagnostik. Bei gegebener Indikation wurde eine Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) oder Loop Electrosurgical Excision Procedure (LEEP) durchgeführt.

Epidemiologisch zeigt die Altersverteilungskurve der CIN3 einen steilen Anstieg ab dem 20. Lebensjahr mit einem Höhepunkt zwischen dem 30. und 35. Lebensjahr. Hieraus folgt, dass die CIN3 vorwiegend eine Erkrankung der jüngeren Frauen ist.

Die CIN3 zeigt in der Zytologie ein typisch morphologisches Bild. Die Spezifität liegt in unserem Krankengut bei 96,0%. In 5 Fällen zeigte die CIN3 bereits eine Stromainvasion (pT1a1) und zweimal auch ein, bei der Kolposkopie nicht sichtbares, invasives Karzinom im Stadium pT1b1.

In 99,3% zeigt der von uns verwendete Hybrid Capture 2 HPV-DNA-Test[®] (HC2-Test) eine positive Reaktion mit den 13, unter dem Oberbegriff high-risk (HR) zusammengefassten HPV-Typen (HR-HPV). Dieser verhält sich in allen Altersklassen gleich. Die Positivrate lag bei 97,9 – 100%.

Bei der Genotypisierung zeigt sich mit zunehmendem Lebensalter ein deutlicher Abfall der Rate der hochonkogenen Typen HPV16/18/45. Diese drei HPV-Typen sind auch für über 80% aller invasiven Karzinome verantwortlich und zeigen die kürzeste Entwicklung von einer CIN3 zu einem ICC. Der Test auf o.g. Genotypen fällt in der Gruppe der 20 - 34-Jährigen in 80,8% der Frauen positiv aus, in der Gruppe der Frauen vom 35. – 49. Lebensjahr in 74,0%. In der Gruppe der Frauen über dem 50. Lebensjahr liegt die Häufigkeit nur noch bei 45,9%. Diesen Abfall der Genotypen HPV16/18/45 mit zunehmendem Alter, deuten wir als einen Screeningeffekt. Dieses Phänomen gibt uns einen bislang wenig beachteten Einblick in die durch das Screening veränderten Abläufe der Karzinogenese. Es werden unter einem morphologisch weitestgehend gleichen Bild Subtypen mit unterschiedlichem biologischen Verhalten erkennbar, wie wir es auch von anderen Malignomen, insbesondere dem Mammakarzinom, kennen.

Der Biomarker CINtec plus p16/Ki67, welcher auf eine Transformation im Zellkern hinweist zeigt in 95,3% eine positive Reaktion. In den verschiedenen Altersabschnitten finden sich keine signifikanten Schwankungen. Die positive immunzytologische Reaktion ist unabhängig vom Genotyp.

Der Biomarker L1 als Hinweis auf ein mögliches Remissionspotential einer CIN ist in 89,0% negativ. Charakteristisch für die CIN3 ist die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv/L1 negativ. Dieses Ergebnis findet sich in allen Altersgruppen in 85,7% unabhängig vom Ergebnis der Genotypisierung und ist somit Ausdruck der fortgeschrittenen Karzinogenese.

In der vorliegenden Arbeit wird erstmals systematisch an einer großen Screening-Population unter Routine-Bedingungen die CIN3 umfassend epidemiologisch, morphologischen, virologisch, sowie mittels Biomarker untersucht und beschrieben. Die altersspezifische Verteilung gibt wichtige Hinweise für die aktuelle Diskussion, insbesondere um die obere und untere Altersgrenze. Der eindrucksvolle Abfall der hochonkogenen HPV-Typen HPV16/18/45 in zunehmendem Alter und die hierdurch implizierten Auswirkung auf die Entstehung invasiver Karzinome in den Folgejahren wirft die Frage auf, inwieweit Frauen bei denen Viren dieser Gruppe nachgewiesen werden, einer intensiveren Vorsorge ggf. auch Therapie zugeführt werden sollen. Dies betrifft insbesondere die Frauen, welche aus Altersgründen nicht geimpft werden konnten, oder nicht an einer möglichen Impfung teilgenommen haben.

Age-specific characterization of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3) using epidemiological, morphological, virological and molecular biology techniques

Cervical cancer screening is the most successful method ever developed to reduce the incidence of malignant disease. It is based on the fact that it is not the carcinoma itself but its precursors that are discovered and treated at an early stage. Target lesion is the immediate precursor of invasive cervical carcinoma (ICC), cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3). With the application of cytodiagnosics, the incidence of the ICC in Germany has been reduced to 75% from 1971 to today. Within the group of women who regularly participate in the screening the incidence of ICC has even been reduced to 90 %. In recent years, in addition to cytological diagnostics, more and more virological and molecular biological methods are used, which are also suitable to detect the CIN3.

In Germany, the early detection of uterine cancer is currently being restructured, including the above-mentioned parameters, in particular the HPV test, into the screening. Against this background, it is necessary to evaluate the performance of cytology, HPV test, as well as of the molecular biological methods, which were so far predominantly investigated in industry-funded studies, also under real-world conditions in a supply laboratory research relating to CIN3.

In the present study, 300 cases, which were histologically described as CIN3, a screening population of 175.000 women were examined epidemiologically, respecting the whole amount of current commercially available morphological, virological and molecular biological methods are examined. In addition to that, an age specification took place. The material for cytodiagnosics, for the creation of the HPV test, as well as for the determination of molecular biological parameters, had been extracted during a dysplasia consultation. As a result, targeted biopsy for a histological diagnosis was carried out. For a given indication, a Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) or Loop Electrosurgical Excision Procedure (LEEP) was performed.

Epidemiologically, the age distribution curve of CIN3 shows a steep increase at the age of 20 years. With its peak between the age of 30-and 35 it follows that the CIN3 is predominantly a disease of younger women. Thus, CIN3 is a disease that affects mainly younger, premenopausal women.

The CIN3 shows a typical morphological picture in cytology. The specificity in our patient material is 96.0%. In 5 cases, CIN3 already showed a stromal invasion (pT1a1). An invasive carcinoma in stage pT1b1, not visible in colposcopy, occurred twice. In 99.3% of the cases, the Hybrid Capture 2 HPV-DNA-Test® (HC2 test) we used, showed a positive reaction to the 13 HPV types (HR-HPV), grouped under the generic term high-risk (HR). This behaves the same in all age groups. The positive rate was 97.9 - 100%.

Genotyping shows a significant decrease in the rate of the highly oncogenic types HPV16/18/45 with increasing age. These three HPV types are also responsible for over 80% of all invasive carcinomas

and show the shortest progression from CIN3 to ICC. The test on the Genotypes are positive in 80.8% of women at the age of 20 to 34 year old group and 74.0% in the group pf 35 to 49 years old women. In the group of women over the age of 50, the frequency is only 45.9%. This decrease in genotypes HPV16/18/45 in terms of increasing age, we interpret as a screening effect. So far, this phenomenon gives us a neglected insight into the processes of carcinogenesis altered by screening. Under a morphologically largely identical picture, subtypes with different biological behavior become recognizable, as we know it from other malignancies, in particular breast cancer. The biomarker CINtec plus p16/Ki67, which indicates a transformation in the nucleus, shows a positive reaction in 95.3%. There are no significant fluctuations in the various age segments. The positive immunocytological response is independent of genotype.

The biomarker L1 as an indication of a possible remission potential of a CIN, is negative in 89.0%. Characteristic for the CIN3 is the combination CINtec plus p16/Ki67 positive/L1 negative. This result is found in all age groups in 85.7% regardless of the result of genotyping and it is thus an expression of advanced carcinogenesis.

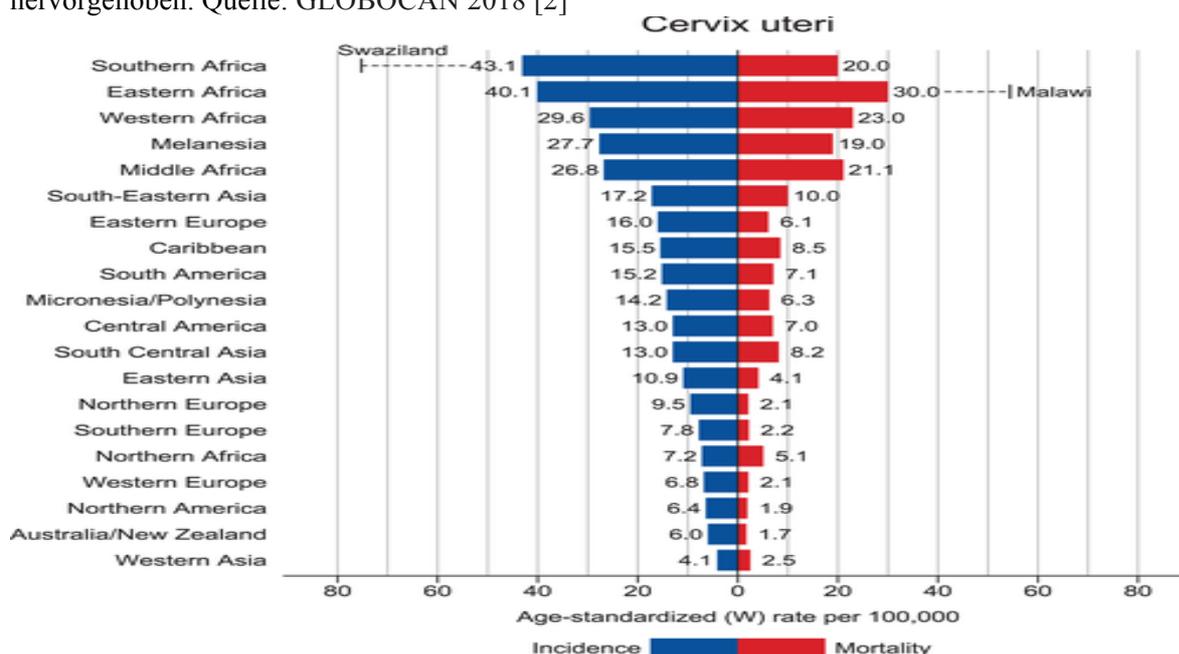
For the first time, CIN3 has been extensively studied and described on a large screening population under real-world conditions, including epidemiological, morphological, virological and biomarker studies. The age specification gives important hints for the current discussion, especially about the upper and the lower age limit. The impressive decline of the HPV types HPV16/18/45 with increasing age and the implication for the development of invasive carcinomas in the following years raises the question of the extent to which women with this group of viruses are detected and, if necessary, more intensive screening therapy should be supplied. This applies in particular to women who could not be vaccinated for reasons of age or who did not participate in a possible vaccination.

2. Einleitung

2.1 Aktueller Stand des Wissens zur Früherkennung von Gebärmutterhalskrebs

Das Zervixkarzinom stellt weltweit die vierthäufigste Krebserkrankung der Frau dar. Insgesamt werden pro Jahr weltweit über 570.000 Zervixkarzinome neu diagnostiziert. Dies entspricht 6,6% aller weiblichen Krebserkrankungen weltweit [1]. Die Zahl der Todesfälle im Jahr 2018 belief sich auf 311.000. 90% dieser Todesfälle treten in Entwicklungsländern auf. Bei Frauen unterhalb des 40. Lj. stellt das Gebärmutterhalskarzinom global sogar die häufigste Todesursache dar. Die höchsten Inzidenzraten des invasiven Zervixkarzinome (ICC) sind heute in Afrika zwischen 26,8-43,1/100.000, in Südostasien bei 17,2/100.000 und in Osteuropa bei 16,0/100.000 Frauen (Abbildung 1, [2]) zu verzeichnen. In den Industriestaaten in Westeuropa, Australien/Neuseeland und Nordamerika konnte durch das Zervixkarzinomscrenning die Inzidenz, von zu Beginn bis zu 40/100.000, auf Werte unter 10/100.000 gesenkt werden [3, 4]. Unter den Staaten der europäischen Union gibt es erhebliche Unterschiede in den Krebsfrüherkennungsprogrammen und der Inzidenz des ICC [5].

Abbildung 1: Balkendiagramm der regionalen Inzidenz und Mortalität der altersstandardisierten Raten des Zervixkarzioms. Die Raten sind nach absteigendem Rang der Welt (W) altersstandardisiert dargestellt. Die höchste nationale altersstandardisierte Rate der Inzidenz und Mortalität ist hervorgehoben. Quelle: GLOBOCAN 2018 [2]



Die sinkende Inzidenz in den entwickelten Ländern, insbesondere in Nordamerika und Australien, ist auf die Entdeckung von George Nicholas Papanicolaou (G.N. Papanicolaou) zurückzuführen. In den 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts entdeckte Papanicolaou, dass es mittels zytologischer Abstriche vom Gebärmutterhals möglich ist die Verdachtsdiagnose eines Zervixkarzinoms mikroskopisch zu stellen. Später erkannte er, dass auch die Vorläufer des ICC, die später sogenannten cervicalen intraepithelialen Neoplasien (CIN) mit dieser Methode diagnostiziert werden können [6] [7]. Die CIN unterscheidet sich vom ICC dadurch, dass die Basalmembran noch intakt ist, und es

somit bisher noch nicht zu einer Invasion gekommen ist. Auch zytologisch zeigen diese beiden Entitäten des nicht-invasiven und des invasiven Karzinoms ein unterschiedlich morphologisches Bild. Diese Ergebnisse wurden 1928 erstmals vorgetragen und offenbar, vor dem Hintergrund eines sehr facettenreichen Lebens, erst 1953 publiziert [8]. In der Folge wurde schnell klar, dass man die Entstehung eines ICC vermeiden kann, wenn es möglich ist seine Vorläufer rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln.

Die Entdeckung Papanicolaous führte schließlich dazu, dass in den hochentwickelten Staaten wie Nordamerika, West-Europa und Australien das Zervixkarzinomscreening eingeführt wurde. 1971 wurde das Zervixkarzinomscreening auch in Deutschland gesetzlich implementiert [9]. Seither wird allen Frauen ab dem 20. Lj. jährlich ein Abstrich der Zervix angeboten. Die Kosten werden von den gesetzlichen Krankenkassen getragen. Die Inzidenz des ICC ist seitdem um 75% gesunken [10].

Im Nationalen Krebsplan für Deutschland wurde im Jahre 2013 festgeschrieben, dass insbesondere die Krebsfrüherkennung des Kolonkarzinoms, sowie des Zervixkarzinoms weiterentwickelt und neu organisiert wird. Die neue Screeningstrategie wurde über einen Zeitraum von 5 Jahren vom Gemeinsamen Bundesausschuss (G-BA) entwickelt und mit Beschluss vom 22.11.2018 verabschiedet: Danach bleibt bei Frauen vom 20. – 34. Lj. die bisherige Screeningstrategie unverändert; es besteht jedes Jahr Anspruch auf einen Abstrich von der Zervix, welcher zytologisch untersucht wird. Ab dem 35. Lj. wird ein sogenannter Ko-Test durchgeführt. Bei dieser Kombinationsuntersuchung tritt zu der Zytodiagnostik ein Test auf hoch Risiko Humane Papilloma Viren (HR HPV-Test) hinzu. Das HPV-Test-Intervall wird auf drei Jahre verlängert und der Algorithmus unter Einbeziehung der Kolposkopie der neuen Strategie angepasst. Diese Richtlinie für organisierte Früherkennungsprogramme und Krebsfrüherkennungsrichtlinie: Programm zur Früherkennung von Zervixkarzinomen wurde am 01.07.2019 vom Gesetzgeber in Kraft gesetzt und startet am 01.01.2020 [11].

2.2 Differentialzytologie der Zervix

G. N. Papanicolaou wollte mit seiner Einteilung der Diagnosen in 5 Gruppen primär zum Ausdruck bringen wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass ein ICC vorliegt. Bei der Gruppe 1 war die Wahrscheinlichkeit sehr gering, bei Einteilung in die Gruppe 5 hingegen sehr hoch. Mit der zunehmenden Verbreitung des Screenings wurde auch der Einblick in die verschiedenen morphologischen Bilder zunehmend besser, sodass auch eine Verdachtsdiagnose auf die, dem zytologischen Bild zugrunde liegende histologische Diagnose, möglich wurde. Diesen Möglichkeiten der Differentialzytologie trägt die Münchner Nomenklatur III (München III) (Abbildung 2) Rechnung. Da sie ständig an den Stand des Wissens angeglichen wird, wurde sie im Jahre 2014 von einem Expertengremium neu überarbeitet und ist in der jetzigen Fassung der Münchner Nomenklatur III für die Beurteilung in Deutschland verpflichtend [12].

Abbildung 2: Darstellung der Münchner Nomenklatur III mit Hauptgruppen (in Fettdruck), Untergruppen mit den zugehörigen Definitionen und den korrelierenden Begriffen des Bethesda-Systems 2001. Die den Befundgruppen beigefügten allgemein gehaltenen Empfehlungen (*kursiv*) sind ebenfalls im Konsens der beteiligten Fachgesellschaften und Berufsverbände vereinbart worden, eine ausführliche evidenzbasierte Leitlinie für Deutschland wird zurzeit erarbeitet [12]

Münchner Nomenklatur III für die gynäkologische Zytodiagnostik der Zervix		
Gruppe	Definition	Korrelat im Bethesda-System
0	Unzureichendes Material → <i>Abstrich-Wiederholung</i>	Unsatisfactory for evaluation
I	Unauffällige und unverdächtige Befunde → <i>Abstrich im Vorsorgeintervall</i>	NILM
IIa	Unauffällige Befunde bei auffälliger Anamnese → <i>ggf. zytologische Kontrolle wegen auffälliger Anamnese (zytologischer/histologischer/kolposkopischer/klinischer Befund)</i>	NILM
II	Befunde mit eingeschränkt protektivem Wert	
IIp	Plattenepithelzellen mit geringergradigen Kernveränderungen als bei CIN 1, auch mit koilozytärem Zytoplasma/Parakeratose → <i>ggf. zytologische Kontrolle unter Berücksichtigung von Anamnese und klinischem Befund (evtl. nach Entzündungsbehandlung und/oder hormoneller Aufhellung; in besonderen Fällen additive Methoden und/oder Kolposkopie)</i>	ASCUS
IIg	Zervikale Drüsenzellen mit Anomalien, die über das Spektrum reaktiver Veränderungen hinausreichen → <i>ggf. zytologische Kontrolle in Abhängigkeit von Anamnese und klinischem Befund (evtl. nach Entzündungsbehandlung; in besonderen Fällen additive Methoden und/oder Kolposkopie)</i>	AGC endocervical
IIe	Endometriumzellen bei Frauen > 40. Lebensjahr in der zweiten Zyklushälfte → <i>Klinische Kontrolle unter Berücksichtigung von Anamnese und klinischem Befund</i>	NOS Endometrial cells
III	Unklare bzw. zweifelhafte Befunde	
IIIp	CIN 2/3/Plattenepithelkarzinom nicht auszuschließen → <i>Differenzialkolposkopie, ggf. additive Methoden, evtl. kurzfristige zytologische Kontrolle nach Entzündungsbehandlung und/oder hormoneller Aufhellung</i>	ASCH
IIIg	Ausgeprägte Atypien des Drüsenepithels, Adenocarcinoma in situ/invasives Adenokarzinom nicht auszuschließen → <i>Differenzialkolposkopie, ggf. additive Methoden</i>	AGC endocervical favor neoplastic
IIIe	Abnorme endometriale Zellen (insbesondere postmenopausal) → <i>Weiterführende klinische Diagnostik, ggf. mit histologischer Klärung</i>	AGC endometrial
IIIx	Zweifelhafte Drüsenzellen ungewissen Ursprungs → <i>Weiterführende Diagnostik (z. B. fraktionierte Abstrich; ggf. additive Methoden/Differenzialkolposkopie)</i>	AGC favor neoplastic
IIID	Dysplasie-Befunde mit größerer Regressionsneigung	
IIID1	Zellbild einer leichten Dysplasie analog CIN 1 → <i>Zytologische Kontrolle in 6 Monaten, bei Persistenz >1 Jahr: ggf. additive Methoden/Differenzialkolposkopie</i>	LSIL
IIID2	Zellbild einer mäßigen Dysplasie analog CIN 2 → <i>Zytologische Kontrolle in 3 Monaten, bei Persistenz >6 Monate: Differenzialkolposkopie, ggf. additive Methoden</i>	HSIL
IV	Unmittelbare Vorstadien des Zervixkarzinoms → <i>Differenzialkolposkopie und Therapie</i>	
IVap	Zellbild einer schweren Dysplasie/eines Carcinoma in situ analog CIN 3	HSIL
IVag	Zellbild eines Adenocarcinoma in situ	AIS
IVbp	Zellbild einer CIN 3, Invasion nicht auszuschließen	HSIL with features suspicious for invasion
IVbg	Zellbild eines Adenocarcinoma in situ, Invasion nicht auszuschließen	AIS with features suspicious for invasion
V	Malignome → <i>Weiterführende Diagnostik mit Histologie und Therapie</i>	
Vp	Plattenepithelkarzinom	Squamous cell carcinoma
Vg	Endozervikales Adenokarzinom	Endocervical adenocarcinoma
Ve	Endometriales Adenokarzinom	Endometrial adenocarcinoma
Vx	Andere Malignome, auch unklaren Ursprungs	Other malignant neoplasms

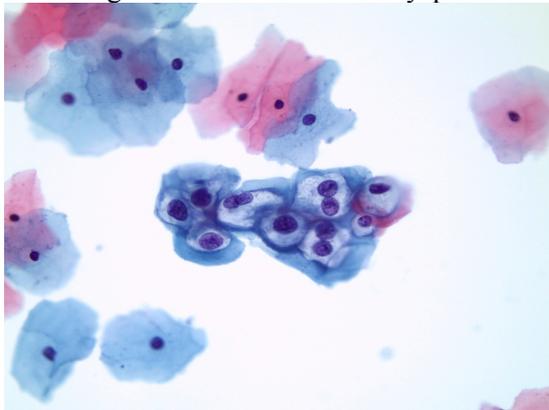
NILM = negative for intraepithelial lesion or malignancy
CIN 1/2/3 = Cervikale Intraepitheliale Neoplasie Grad 1/2/3
ASCUS = atypical squamous cells of undetermined significance
AGC endocervical NOS = atypical glandular endocervical cells not otherwise specified
ASCH = atypical squamous cells of undetermined significance cannot exclude HSIL
AGC endocervical, favor neoplastic = atypical glandular endocervical cells favor neoplastic
AGC endometrial: Atypical glandular endometrial cells
AGC favor neoplastic = atypical glandular cells favor neoplastic
LSIL = lowgrade squamous intraepithelial lesion
HSIL = highgrade squamous intraepithelial lesion
AIS = Adenocarcinoma in situ

In den USA und zahlreichen anderen Ländern erfolgt die Klassifikation nach dem Bethesda-Schema [13]. Beiden gemeinsam ist, dass zytologisch leichte Kernveränderungen der Stufe CIN1 zugeordnet werden. München III unterscheidet mittelschwere Veränderungen der Stufe CIN2 und Läsionen mit schweren Kernveränderungen der Stufe CIN3. Im Gegensatz dazu ordnet die Bethesda-Klassifikation Veränderungen der histologischen Typen CIN2 und CIN3 den hochgradigen Veränderungen, den sogenannten high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) zu. Die Überarbeitung der Münchner Nomenklatur aus dem Jahre 2014 hat diese Besonderheit berücksichtigt, sodass nun ein direkter klinischer und wissenschaftlicher Vergleich beider Systeme möglich ist.

2.3 Zytologische Bilder der CIN1, CIN2 und CIN3

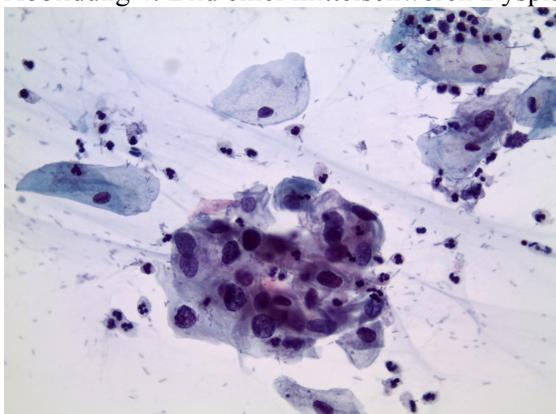
Im Rahmen der Karzinogenese kommt es zunächst zu leichten Kernveränderungen, welche histologisch als CIN1 bezeichnet werden. Deren zytologisches Korrelat stellt die Gruppe IIID1 dar.

Abbildung 3: Bild einer leichten Dysplasie mit HPV-Zeichen entsprechend einer Gruppe IIID1



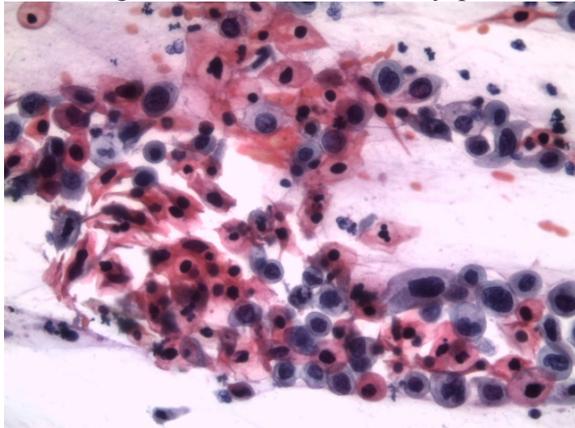
Die CIN1/Gruppe IIID1 kann sich zu einer mittelschweren Dysplasie CIN2/Gruppe IIID2 weiterentwickeln.

Abbildung 4: Bild einer mittelschweren Dysplasie entsprechend einer Gruppe IIID2



Ist der Befund progredient, so entsteht eine schwere Dysplasie oder Carcinoma in situ (Gruppe IVa-p). Sie ist die direkte Vorstufe des Zervixkarzinoms. Histologisch entspricht sie einer CIN3.

Abbildung 5: Bild einer schweren Dysplasie/Carcinoma in situ entsprechend einer Gruppe IVa-p



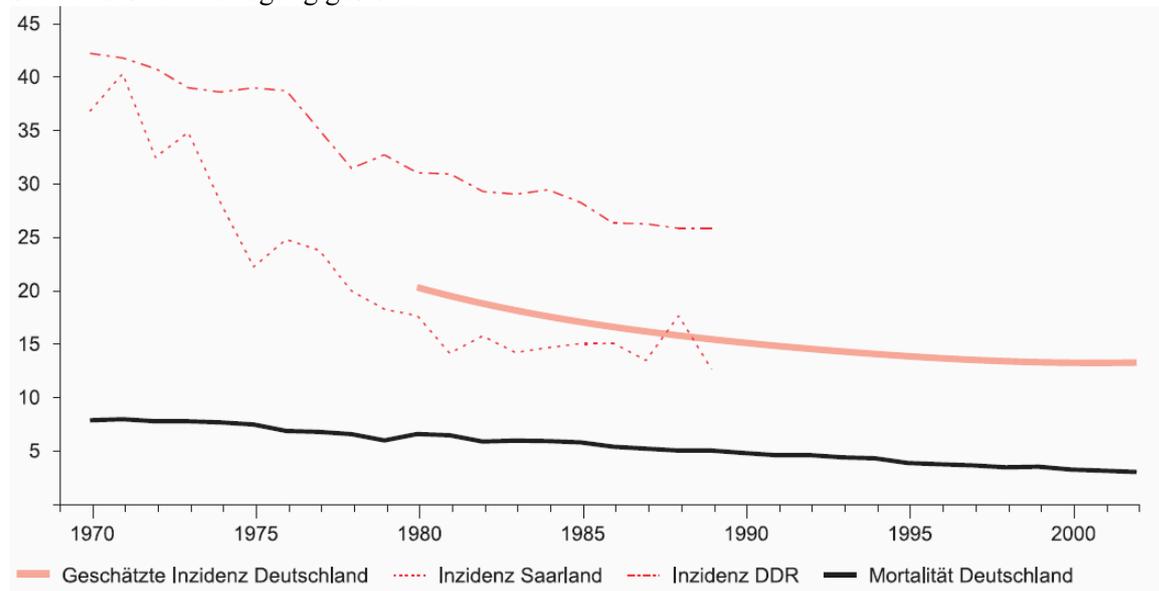
2.4 Histologie

Die histologische Klassifikation der WHO wurde ebenfalls im Jahre 2014 neu überarbeitet [14]. Neben den plattenepithelialen Veränderungen, welche den überwiegenden Teil der ICC ausmachen, werden auch die glandulären Veränderungen beschrieben, welche von den endozervikalen Drüsenzellen ausgehen. Sie treten in bis zu 20% der Fälle auf und werden zunehmend häufiger beobachtet [15, 16]. Im Gegensatz zu den plattenepithelialen Karzinomen, welche über mehrere Vorstufen entstehen, sind bei dem Adenokarzinom der Zervix, außer dem Adenokarzinoma in situ (AIS), bislang keine weiteren Vorläufer bekannt. Dies erschwert die Prävention des glandulären Karzinoms erheblich [17, 18]. Es handelt sich bei den Adenokarzinomen der Zervix nach unserem heutigen Wissensstand um eine eigene Entität die zurzeit Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Untersuchungen ist. Aus diesem Grund haben wir uns im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf die plattenepithelialen Läsionen (CIN3) beschränkt, welche zytologisch im Rahmen der Vorsorge mit hoher Sensitivität und Spezifität erfasst werden können. In der WHO-Klassifikation werden darüber hinaus, auch seltene Typen wie klarzellige Karzinome, sowie solche vom gastrointestinalen Typ beschrieben. Diese spielen für das Screening jedoch nur eine untergeordnete Bedeutung.

2.5 Zervixkarzinomscreening in Deutschland ab 1971

Das Zervixkarzinomscreening in Deutschland hat sich zur erfolgreichsten Vorsorgeuntersuchung aller Zeiten entwickelt. So gelang es, die Inzidenz des Gebärmutterhalskrebses in Deutschland, von 40,2% im Jahre 1971 [19], auf 9,1% im Jahre 2014 zu senken [20]. Dies entspricht einer Reduktion von über 75% (Abbildung 6) [16, 19, 21].

Abbildung 6: Veränderung der Inzidenz des Zervixkarzinoms in Deutschland. Rote durchgezogene Linie: Geschätzte Inzidenz in Deutschland, rote gepunktete Linie: Inzidenz im Saarland, rote gestrichelte Linie: Inzidenz in Deutsche Demokratische Republik (DDR), schwarze Linie: Mortalität in Deutschland [19]. Diese Abbildung wurde uns vom Epidemiologischen Krebsregister des Saarlandes zur Verfügung gestellt.

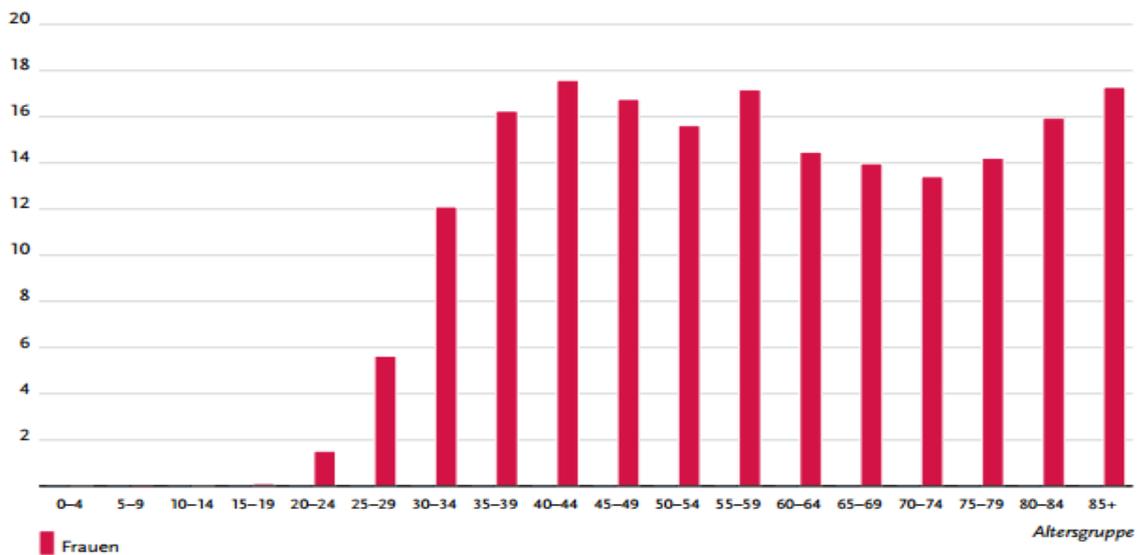


Während in der Zeit von 1970 bis 1980 ein steiler Abfall der Inzidenz beobachtet werden konnte (Abbildung 6), erkennt man ab dem Jahre 2002 nur noch eine gering rückläufige Tendenz der Inzidenz des ICC innerhalb der letzten Jahre. Diese ist allerdings statistisch signifikant [22].

Heute treten nur noch ca. 25% der Fälle, der vor Beginn des Zervixkarzinomscreenings diagnostizierten Erkrankungen, auf [10]. Ca. 60% der betroffenen Frauen haben über 5 Jahre nicht an den Vorsorgeuntersuchungen teilgenommen und sind somit als Teilnahmeversager zu beurteilen [23-25]. Die altersspezifischen Erkrankungsraten der verbliebenen ICC zeigen heute einen steilen Anstieg vom 20. bis zum 44. Lj. mit einer deutlichen Absenkung zwischen dem 60. bis 74. Lj. (Abbildung 7), [16].

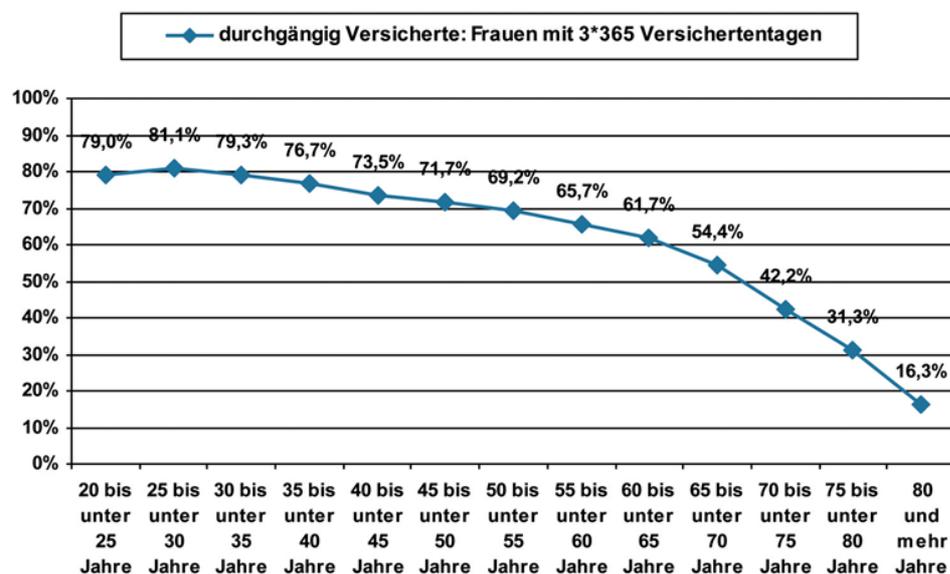
Abbildung 7: Altersspezifische Verteilung der Zervixkarzinome (ICD-10: C53) in Deutschland 2011-2012 pro 100.000 Frauen, Quelle: Robert-Koch-Institut 2017 [16]

Altersspezifische Erkrankungsrate, ICD-10 C53, Deutschland 2011–2012
je 100.000



Ein wichtiger Faktor für die Effektivität eines Vorsorgeprogramms ist die Teilnehmerate. Je mehr Frauen am Zervixkarzinom-Screening teilnehmen, umso erfolgreicher wird dieses Programm sein. Untersuchungen des Zentralinstitutes der Kassenärztlichen Vereinigung aus 2008 haben ergeben, dass Frauen bis zum 35. Lj. in ca. 80% am Screening teilnehmen. Danach kommt es zu einem kontinuierlichen Abfall, welcher bis zum 65. Lj. mit einer Teilnehmerrate von 55% langsam absinkt. Insgesamt beträgt die Teilnehmerate in der Zeitspanne vom 20. bis 65. Lj. im Drei-Jahres-Intervall 79%. Nach dem 75. Lj. liegt die Teilnehmerrate nur noch bei 31,3% und ab dem 80. Lj. nur noch bei 16,3% (Abbildung 8) [26, 27].

Abbildung 8: Zentralinstitut für die Kassenärztliche Versorgung in der Bundesrepublik Deutschland. Abschlussbericht Durchführung einer versichertenbezogenen Untersuchung zur Inanspruchnahme der Früherkennung auf Zervixkarzinom in den Jahren 2002, 2003 und 2004 auf der Basis von Abrechnungsdaten. Mai 2009 [26, 28].



2.6 HPV-Infektion und Karzinogenese

Ebenso wie die Entdeckung der zytologischen Diagnostik und ihrer weiteren Entwicklung zur Differentialzytologie war die Entdeckung, dass es sich bei dem ICC um das Endprodukt einer Infektion mit einem humanen Papillomavirus (HPV) handelt, von weitreichender Bedeutung. Zu Beginn der 70er Jahre hat Harald zur Hausen erstmals auf diesen Zusammenhang hinweisen. Die erste diesbezügliche Publikation stammt aus dem Jahre 1974, sowie weitere Veröffentlichungen aus den Folgejahren [29-32]. Im Jahre 2008 wurde er hierfür mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Für die Karzinogenese des plattenepithelialen Zervixkarzinoms, aber auch für das Screening war diese Kenntnis von besonderer Bedeutung. Eine notwendige, wenn gleich nicht immer hinreichende Voraussetzung für die Entstehung eines ICC ist die Infektion des Gebärmutterhalses mit dem humanen Papillomavirus [33, 34].

Eine Infektion mit einem HP-Virus erfolgt meist bei jungen Frauen in ihrem ersten Jahrzehnt sexueller Aktivität. Entsprechend hoch ist auch die Prävalenz der Infektion bei Frauen unter 30 Jahren mit ca. 20%. Bei intakter Immunität bildet sich die Infektion innerhalb von ein bis zwei Jahren zurück [35, 36]. Infektionen die spontan ausheilen bezeichnet man als transiente Infektionen.

Eine ausheilende Infektion (Remission) ist bei immunkompetenten Frauen in über 90% der Fälle zu erwarten. Gelingt es der Frau nicht den Virus zu eradizieren, so persistiert dieser und kann in das Genom der Zelle integriert werden. Dort führt er zu Kernveränderungen, welche als CIN sichtbar werden und sich schließlich zum ICC weiterentwickeln können. Diese Art der Infektion wird als transformierende Infektion bezeichnet.

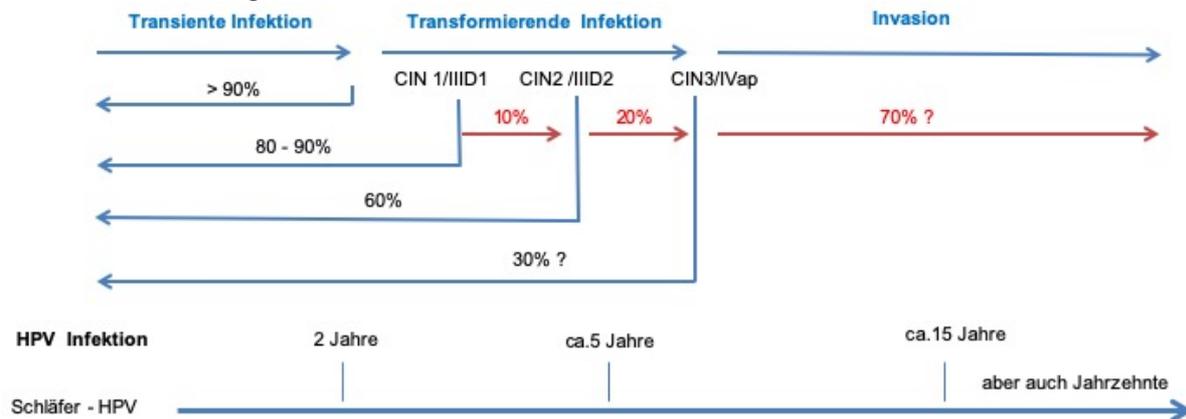
Die Progredienz in ein ICC entwickelt sich innerhalb vieler Jahre oder gar Jahrzehnte. Jeder HPV-Genotyp wirkt als eine unabhängige Infektion mit unterschiedlichen karzinogenen Risiken in Verbindung mit evolutionären Spezies [37]. Die Entwicklung von der CIN1 bis zum ICC scheint kontinuierlich zu erfolgen, allerdings finden sich auch bei der transformierenden Infektion erhebliche Remissionsraten. Diese liegen für die CIN1 bei bis zu 90%, für die CIN2 um 60%. Selbst bei der CIN3 geht man von einer Remissionsrate von ca. 30% aus [38]. Die Progressionsraten der CIN1 zur CIN2 liegen bei ca. 10%, die der CIN2 zur CIN3 bei etwa 20% [38, 39]. Wie viele CIN3 in ein ICC übergehen ist unklar, da die CIN3 bei Diagnosestellung immer behandelt wird. Lediglich aus einer Nachuntersuchung einer unethischen Studie aus Neuseeland ist bekannt, dass innerhalb von 30 Jahren 50% der unbehandelten CIN3 in ein ICC übergehen [40].

Ob und wie schnell eine HPV-Infektion zu einer CIN3 und diese zu einem ICC führt, hängt von dem HPV-Genotyp, sowie der Immunitätslage der Patientin ab. So führt eine Infektion mit HPV16 innerhalb von 10 Jahren in 17,2% und HPV18 in 13,6% zu einer CIN3, während dies mit den übrigen Non-16/18-HR-HPV-Typen in lediglich 3,0% der Fall ist. Ist der HR-HPV negativ liegt die Wahrscheinlichkeit in den nächsten 10 Jahren an einer CIN3 oder einem ICC zu erkranken nur bei 0,8% [41]. Somit kommt der Genotypisierung zur Risikostratifizierung sowohl eines HPV-Infektes, als auch einer CIN, eine erhebliche Bedeutung zu.

Generell kann man davon ausgehen, dass es von einer HPV-Infektion bis zur Entstehung einer CIN3 5 Jahre und mehr dauert und die Zeitspanne zwischen einer CIN3 und der Entstehung eines ICC 10 Jahre, in vielen Fällen aber auch Dekaden andauert [42-44].

Diese langen Verläufe sind der Grund, weshalb die Krebsvorsorge mittels jährlichem zytologischen Abstrich so erfolgreich ist: selbst wenn bei Vorliegen einer CIN3 diese im Jahr 1, aus welchen Gründen auch immer nicht diagnostiziert wurde, so ist eine Entdeckung in der nächsten oder übernächsten Screening-Runde immer noch rechtzeitig, um die Entstehung eines ICC zu vermeiden [45]. Von besonderer Bedeutung für das zytologische Screening ist die Tatsache, dass die Verlaufszeiten von Regression, Persistenz und Progression sehr lange sind [46-51]. Wentzensen beschreibt diese Heterogenität von Läsionen des Schweregrades CIN2+ in ihrem Verhalten abhängig vom HPV-Typ [52, 53].

Abbildung 9: Schematischer Weg der HPV-Infektion zum invasiven Zervixkarzinom mit geschätzten Remissions- und Progressionswahrscheinlichkeiten



2.7 HPV-Diagnostik

Von den derzeit bekannten über 100 HP-Viren sind 13 Viren eng mit der Entstehung des Zervixkarzinoms verbunden und werden daher auch als „high-risk“ (HR) HP-Viren bezeichnet. Hierbei handelt es sich um die Virentypen HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

11 "low-risk" (LR) HPV-Typen (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81) wurden als Verursacher von Kondylomen bzw. niedriggradigen Dysplasien beschrieben und können ebenfalls, jedoch nur selten, zur Entstehung eines Karzinoms führen.

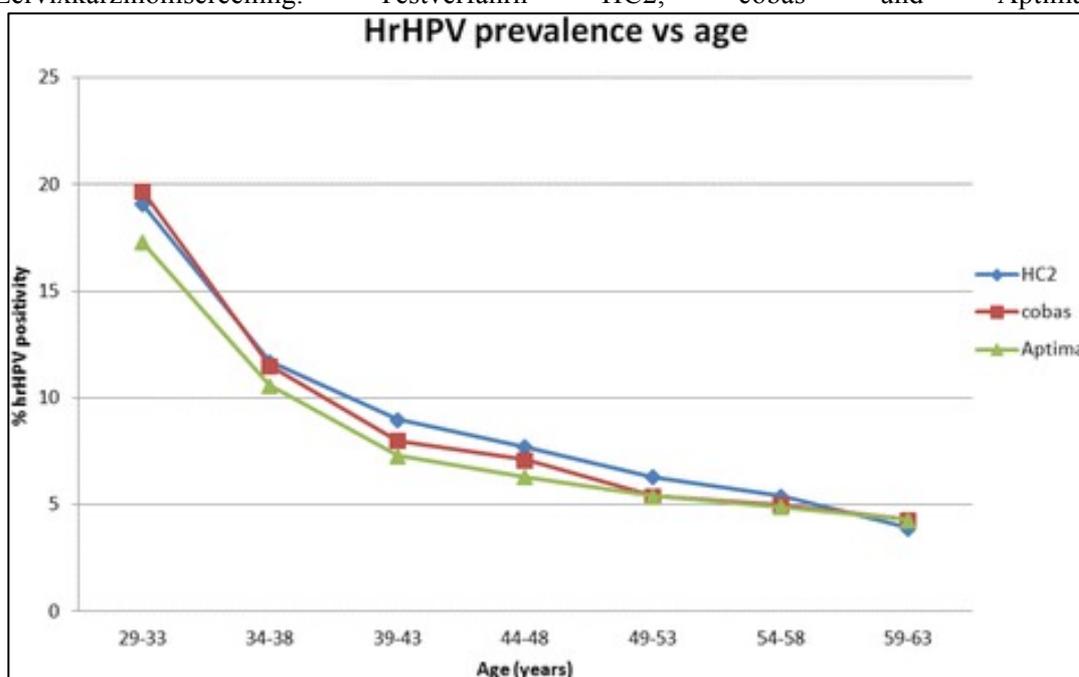
Die Arbeitsgruppe um Maier [54] entwickelte ein System, welches erlaubt Sensitivität und Spezifität der unterschiedlichen HPV-Tests zu evaluieren. Diese Kriterien finden auch Anwendung bei der FDA-Zulassung (U.S. Food and Drug Administration = deutsche Behörde für Lebens- und Arzneimittel). Den Goldstandard stellt bislang der Hybrid Capture 2 HPV-DNA-Test® (HC2) dar, welcher aufgrund multipler Andockstellen für die Virus-DNA, die höchste bekannte Sensitivität besitzt. Der HC2-Test beschreibt einen DNA-Test, welcher einen Pool mit den o.g. 13 onkogenen HR-HPV-Genotypen umfasst. Ein analoger Vergleichstest existiert auch für Polymerase-Kettenreaktion- (PCR-) basierte HPV-Tests, welche ebenfalls dezidiert beschrieben sind [54]. Die verschiedenen aktuell angebotenen HPV-Testsysteme weisen in ihrer Sensitivität keine substantiellen Unterschiede auf [35]. Mit dieser Problematik beschäftigt sich eine ausführliche Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Virologie [55]. In der S3-Leitlinie: „Prävention des Zervixkarzinoms“ wurde eine Liste von HPV-Testverfahren erstellt, die diese Kriterien erfüllen [56].

Seit ca. 10 Jahren liegen zahlreiche Untersuchungen vor welche belegen, dass durch eine primäre HPV-Diagnostik mit stringenter kolposkopischer Abklärung, bei Vorliegen eines positiven HPV-Testes, die Zahl der diagnostizierten CIN3 höher liegt, als dies zytologisch der Fall ist [57]. Da die Zahl der kolposkopischen Untersuchungen jedoch um ein Vielfaches höher ist als bei alleiniger zytologischer Diagnostik, erhebt sich natürlich die Frage inwieweit dieser Erfolg mit einer

möglicherweise unnötigen invasiven Maßnahme erkaufte wird. Eine vorläufig abschließende Zusammenfassung der Ergebnisse wurde im Lancet veröffentlicht [58-63]. Darüber hinaus wird intensiv diskutiert, ob mit der HPV-Diagnostik tatsächlich alle CIN3 und ICC detektiert werden kann, bzw. wie hoch der Anteil HPV-negativer Läsionen ist [51, 64-67].

Die Prävalenz von HR HPV ist bei Frauen unter 30 Jahren deutlich höher als in einer späteren Lebensphase (Abbildung 10) [35]. In Deutschland liegt die Prävalenz nach dem 30. Lj. lediglich noch bei 6-7% [68]. Dies ist auch der Grund weshalb der G-BA beschlossen hat, zur Prävention des ICC bei Frauen unter dem 35. Lj. primär die Zytodiagnostik einzusetzen.

Abbildung 10: Altersspezifische Verteilung der HPV-Prävalenz im dänischen Zervixkarzinomscreening. Testverfahren HC2, cobas und Aptima [35]



Bei Frauen jenseits des 30. Lj. wird bereits seit längerer Zeit überlegt, HPV-Test und Zytodiagnostik zu kombinieren. Es stünden somit zwei diagnostische Instrumente zur Verfügung, wobei der HPV-Test eine hohe Sensitivität und geringe Spezifität aufweist und die Zytologie eine hohe Spezifität, allerdings insbesondere bei einmaliger Durchführung, eine geringe Sensitivität. Diese als Ko-Test bezeichnete Kombinationsdiagnostik wird in dieser Form bereits in den USA seit 2003 praktiziert. Die Ergebnisse einer umfangreichen retrospektiven Analyse belegen ein erfolgreiches Zusammenspiel [51, 69, 70]. Ab dem 01.01.2020 wird der Ko-Test auch in Deutschland bei Frauen ab dem 35. Lj. eingesetzt. Das Untersuchungsintervall wird von einem Jahr, bei alleiniger zytologischer Diagnostik, auf drei Jahre bei Durchführen des Ko-Test verlängert.

2.8 Genotypisierung

Über 80% aller ICC werden durch die HPV-Typen 16/18/45 induziert [34, 71]. Daher werden sie auch, als HPV-Typen mit hohem onkogenen Potential, bezeichnet. Im Vergleich zu den übrigen HPV-Genotypen führen diese schneller zur Entstehung einer CIN3, jedoch auch zur Entstehung eines ICC [41, 72-74]. Darüber hinaus ist bekannt, dass bei Vorliegen einer Infektion mit HPV16 und 18, auch bei negativer Zytologie, kolposkopisch in über 10% der Fälle, eine CIN3 gefunden wird [75]. Diese Tatsache fließt auch in die Überlegungen zur Neustrukturierung des Zervixkarzinomscreenings in einigen Ländern wie z.B. den Niederlanden oder Australien ein [76, 77].

2.9 Biomarker

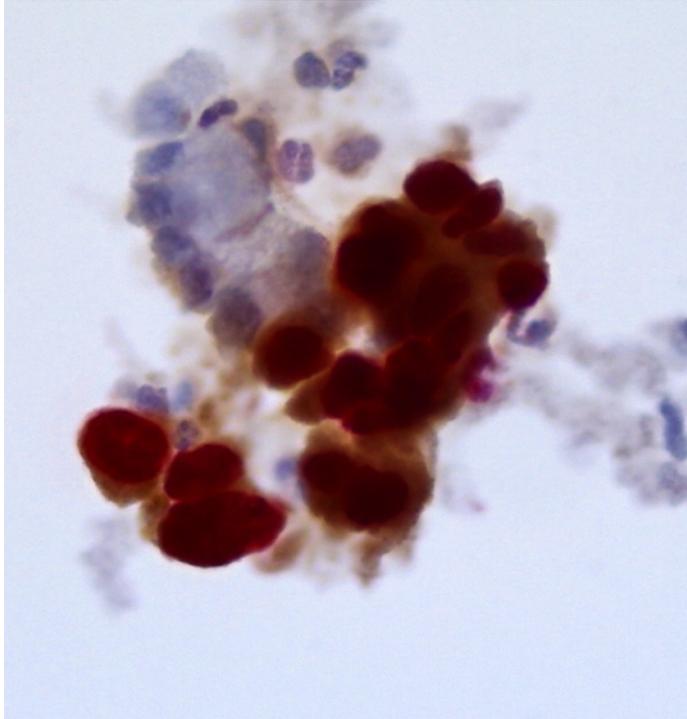
Bereits seit über 20 Jahren stehen Biomarker zur Verfügung welche, in hohem Maße und insbesondere bei höhergradigen Veränderungen, zytologisch und histologisch eine typische immunologische Reaktion zeigen. Die derzeit auch in der Routinediagnostik verwendeten Biomarker sind: CINtec plus p16/Ki67 der Firma „Roche Diagnostics“ und der Marker L1 des Cytoaktiv-Tests der Firma „Cytoimmun“.

2.9.1 CINtec plus p16/Ki67

Bei CINtec plus p16/Ki67 handelt es sich um ein immunzytochemisches Verfahren, welches die beiden Biomarker p16 und Ki67 beinhaltet. Bei p16 handelt es sich um ein Protein, welches in die Kontrolle des Zellzyklus eingebunden ist. Kommt es zu einer Proliferation, insbesondere auf dem Boden einer onkologischen Transformation, welche durch eine HPV-Infektion induziert wurde, so versucht die Zelle durch eine Überexpression von p16 INK4a den Zellzyklus wieder zu stabilisieren. P16 kann immunologisch sowohl an zytologischen, als auch an histologischen Präparaten nachgewiesen werden [78]. Auch wenn die Domäne von CINtec plus p16/Ki67 zervikale Läsionen sind, so konnte eine hohe Spezifität auch bei Patienten mit HNO-Tumoren nachgewiesen werden [79]. Aufgrund seiner hohen Sensitivität und Spezifität wird sogar diskutiert, ob die immunzytochemische Darstellung die zytologische Diagnostik mit der subjektiven Interpretation durch den Zytologen ersetzen kann [80].

Bei klinischen Studien fiel jedoch auf, dass auch Zellen, welche nicht einer CIN zuzuordnen sind (z.B. Metaplasie- oder Endometriumzellen) eine positive Reaktion mit p16 zeigen können. Es wurde daher zusätzlich zur p16 INK4a Darstellung der Proliferationsmarker Ki67 hinzugegeben und der Kit CINtec plus genannt. Wird in einer Zelle sowohl p16 als Hinweis auf die Gegenregulation einer onkogenen Transformation und gleichzeitig Ki67 als Proliferationsmarker nachgewiesen, so handelt es sich in jedem Fall um ein pathologisches Geschehen (Abbildung 12). Mit Zunahme des Schweregrades der CIN-Läsion nimmt auch der prozentuale Anteil CINtec plus - positiver Zellen zu [80, 81].

Abbildung 11: Beispiel für eine positive Reaktion von CINtec plus p16/Ki67. Braunes Zytoplasma zeigt eine positive Reaktion für p16, der rote Zellkern zeigt die positive Reaktion für Ki67 an



Die umfassendste Studie zur Sensitivität und Spezifität von CINtec plus ist die PALMS-Studie. Hier konnte für CINtec plus p16/Ki67 eine höhere Sensitivität nachgewiesen werden, als mit der Zytodiagnostik [80, 81].

2.9.2 L1

Bei dem Biomarker L1 handelt es sich um einen Teil des Kapsidproteins des HP-Virus, welches auch in den Impfstoffen enthalten ist. Zellen in denen das L1-Kapsid vorhanden ist, können vom Immunsystem erkannt werden. Untersuchungen der Arbeitsgruppe aus Erlangen zeigen, dass Zellen in denen L1 nachgewiesen werden kann, in etwa 80% der Fälle eine Remission erfahren [82, 83], während L1-negative Zellen eher ein progredientes Verhalten zeigen. Man geht davon aus, dass der Nachweis von L1 einen Hinweis auf einen günstigen Verlauf der Erkrankung darstellt. L1 kann immunzytochemisch dargestellt werden. Der Nachweis findet im Zellkern statt (Abbildungen 12 und 13).

Abbildung 12: Rot angefärbter Zellkern in dysplastischen Zellen als Zeichen des positiven Nachweises von L1 – hohe Progressionswahrscheinlichkeit von ca. 80%

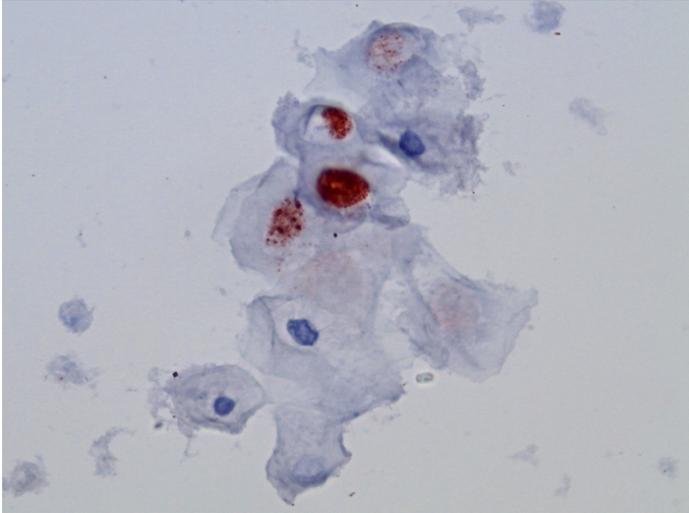
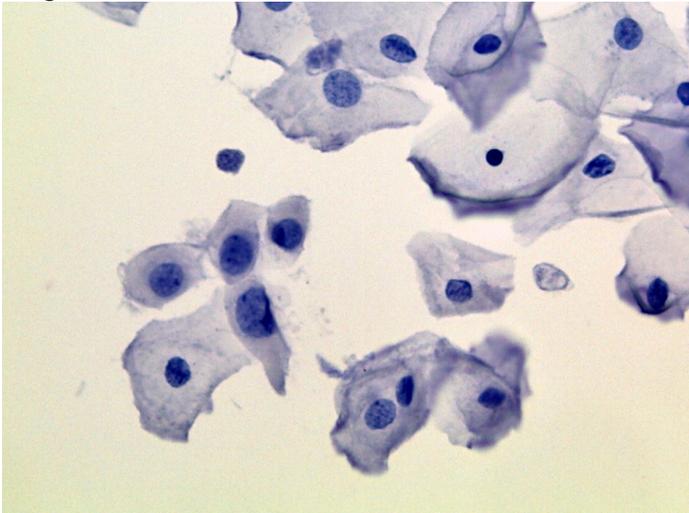


Abbildung 13: Fehlende Anfärbung der Zellkerne der dysplastischen Zellen – L1 negativ – Progressionswahrscheinlichkeit 80%



Die oben beschriebenen, zur Einschätzung des Progressionsrisikos im Einzelfall nützlichen Parameter wie die Genotypisierung und die Biomarker CINtec plus p16/Ki67 und L1 sind aktuell in Deutschland nicht Gegenstand des organisierten Screenings, stehen aber zur differenzierten Beurteilung bei Grenzfällen zur Verfügung. Eine endgültige Entscheidung über den Nutzen dieser Parameter im Rahmen der aktuellen organisierten Krebsfrüherkennung für das ICC, bleibt einem anstehenden Gutachten des Institutes für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) vorbehalten.

2.10 Impfung

Seit 2007 werden in Deutschland Mädchen zwischen dem 9. und dem 14. Lj. gegen die HPV-Genotypen 16 und 18 (bivalent) bzw. gegen die Genotypen 6/11/16/18 (quatrovalent) geimpft. Seit 2016 steht auch ein nonavalenter Impfstoff zur Verfügung. Die Impftrate liegt im Gegensatz zu anderen europäischen Ländern und Australien mit bis zu 80% [84], in Deutschland lediglich bei 40% [85]. Im November 2018 hat der GBA auch die Impfung für Jungen im selben Alter befürwortet [86, 87].

Die hohe Effektivität der Impfung zur Vermeidung einer CIN wird aktuell in einem ‚cochrane systematic review‘ der Arbeitsgruppe um Arbyn dargelegt [88, 89].

Die Bedeutung der HPV-Impfung wird in 2 Publikationen aus Australien sichtbar. Diese modellieren unter der Prämisse eines primären HPV-Screenings und einer konsequenten Weiterführung der Impfung beider Geschlechter, bereits mittelfristig einen drastischen Abfall der Inzidenz des ICC. Haben die geimpften Mädchen das 60.-65. Lj. erreicht, so liegt nach diesen Modellen die Rate der ICCs in Zukunft nur noch bei 1/100.000 [90, 91]. Nach diesen Berechnungen kommt der Impfung zur Vermeidung des ICCs und dessen Vorläufern eine vielfach höhere Bedeutung zu als dem Screening.

2.11 Fragestellung

Zahlreiche Arbeiten haben sich mit der zytologischen und histologischen Morphologie der CIN3 beschäftigt. Ebenso liegen umfangreiche Daten über die Sensitivität und Spezifität der HPV-Diagnostik, sowie der Biomarker CINtec plus p16/Ki67 und L1 vor [54, 80, 81, 92-94]. Die aussagekräftigen Studien mit der zur Beantwortung der Fragestellung notwendigen Power wurden auf Grund der damit verbundenen hohen Kosten fast alle von der Industrie finanziert. Oft war der Grund für die Durchführung der Studie eine gewünschte Zulassung durch die FDA. Es soll in dieser Arbeit überprüft werden, inwieweit diese Studiendaten auch in der Routinediagnostik in einem Labor, das seit vielen Jahren für die Versorgung der Bevölkerung verantwortlich ist, reproduzierbar sind. Darüber hinaus sind die von uns erhobenen Daten geeignet, zusätzlich eine altersspezifische Analyse für alle Parameter durchzuführen, um diese zu korrelieren. Hierüber liegen bisher noch keine validen Untersuchungen vor.

Insbesondere interessieren folgende Fragen:

1. Epidemiologie und altersspezifische Häufigkeit der CIN3
2. Sensitivität und Spezifität der Zytodiagnostik bei CIN3
3. Sensitivität von HR HPV bei CIN3
4. Häufigkeit von HPV16/18/45 bei CIN3
5. Sensitivität von CINtec plus/Ki67 bei CIN3
6. Nachweis von L1 bei CIN3
7. Korrelation der Parameter untereinander mit dem Ziel typische Interaktionen zu beschreiben

Von besonderem Interesse war es darüber hinaus, die oben genannten Fragen für unterschiedliche Altersgruppen zu beantworten. Endziel ist die umfassende morphologische, virologische und molekularbiologische Charakterisierung der CIN3 mit den derzeit in der Routinediagnostik gebräuchlichen Methoden.

3. Material und Methodik

Die Daten wurden in der Kolposkopie-Sprechstunde der Frauenärzte am Staden in Saarbrücken, sowie dem dazugehörigen Labor für Zytologie, HPV-Diagnostik und Molekularbiologie, generiert. Bei der Kolposkopie-Sprechstunde handelt es sich um eine von der Arbeitsgemeinschaft Zervix-Pathologie und (AGCPC), sowie der deutschen Krebsgesellschaft (DKG) und nach den Kriterien von ‚Onkozeit‘, zertifizierten Dysplasie-Sprechstunde. Der Datenpool stammt von Frauen, die an der gesetzlich geregelten Krebsvorsorgeuntersuchung teilgenommen haben. Bei abklärungsbedürftigen Befunden im Zervixkarzinom-Screening wurde diesen Frauen eine Untersuchung in der Kolposkopie-Sprechstunde angeboten.

Von Januar 2009 bis Oktober 2017 haben insgesamt 726 Patientinnen die Kolposkopie-Sprechstunde aufgesucht. Primär wurde bei 327 Frauen histologisch eine CIN3 diagnostiziert. Ausgewertet wurden die Daten von 300 Frauen, bei denen eine vollständige Dokumentation aller erforderlichen Daten vorlag. Bei einer Inzidenz der CIN3 in Deutschland von durchschnittlich 0,17% entspricht dies einer Screening-Population von 175.000 Frauen.

3.1 Kolposkopie-Sprechstunde - Ablauf und prospektive Erfassung der Daten

Frauen mit einem abklärungsbedürftigen Befund im zytologischen Screening können, nach den gesetzlichen Vorgaben, die zertifizierte Dysplasie-Sprechstunde aufsuchen. Bei der Kolposkopie erfolgt zunächst eine Betrachtung der Portio unter nativen Bedingungen. Sodann wird, falls noch nicht vorhanden, ein Abstrich von der Transformationszone und dem Zervikalkanal zur HPV-Diagnostik, entnommen. Aus demselben Gefäß kann, wenn gewünscht, auch eine Genotypisierung erfolgen. In einem zweiten Schritt wird die Portio mit 0,3%-iger Essigsäure betupft. Es stellt sich, je nach Schweregrad der Veränderung, eine Minor- oder Major-Läsion dar. Nach Abklingen der Essigreaktion wird ein zytologischer Abstrich mittels speziellem Zytologiepinsel („Broom“) durchgeführt und dieser in einem speziellen Fläschchen („Vial“) aufgeschwemmt (Abbildung 15).

Abbildung 15: Abstrichpinsel (Broom) und Zytologiefläschchen (Vial) in dem die mit dem Broom entnommenen Zellen der Zervix aufgeschwemmt werden



Aus diesem Vial kann dann sowohl die Liquid-Based-Cytology (LBC), als auch die immunzytologische Darstellung von CINtec plus p16/ki67 und L1 erfolgen. Die einzelnen Schritte, einschließlich der während der Kolposkopie erstellten Fotos, werden digital dokumentiert und stehen so auch für den abschließenden Befund/Arztbrief zur Verfügung. In Abhängigkeit von dem kolposkopischen Befund erfolgt eine ggf. auch mehrere kolposkopisch gesteuerte Biopsien, sowie eine Zervixabrasio.

Die Diagnosen der LBC, der HPV-Diagnostik einschließlich Genotypisierung, sowie der Biomarker CINtec plus p16/Ki67 und L1, werden in einem gesonderten Befund zusammengefasst. Da diese die spezielle Situation einer jeden Frau wiedergibt, wird dieser als „individuelles Zytoprofil“ (Abbildung 16) bezeichnet. Gleichzeitig ist sichergestellt, dass alle Befunde prospektiv nach einem einheitlichen Schema erfasst und dokumentiert werden.

Abbildung 16: Zytologieprofil mit Zusammenfassung der wichtigsten Informationen in tabellarischer Form. Am Ende der Seite erfolgt die Zusammenfassung mit patientinnen-individualisierter Therapieempfehlung



Prof. Dr. Klaus J. Neis

FRAUENÄRZTE AM STADEN

Gynäkologie · Onkologie · Geburtshilfe

Individuelles Zytoprofil

02.01.2016

An Herrn
Dr. XXX

Vielen Dank für den Laborauftrag Ihrer Patientin Frau **XX, XX**, geb.: 01.01.1990

Alter: 26 / Kinderwunsch: ja; Raucherin: ja

Zytologische Vorfunde: ja, Pap IV a -p, 12/3/2015

Zytologische Diagnose:

Zytoprognosescore nach Neis: 6

Eingangsnummer:	Pap-Gruppe	Datum	Score für Zytologie	Punktwert
16-003600	Pap IV a -p	17.02.2016	I / II	0
			III / III D	1
			IV a	2

positive HPV-Vorfunde: nein

HPV-Test:	Datum:	Ergebnis:	Score für HPV	Punktwert
low risk		keinTest	HPV HC2 Ø	0
high risk	17.02.2016	positiv	HPV HC2 +	1
16/18/45	17.02.2016	positiv	HPV 16/18/45 +	2

Immunzytochemie:

Vorliegendes Material:	V. a. ein teils verhornendes Ca in situ	Score bei Ergebnis	Punktwert
CINtec PLUS:	positiv	L1 Ø / CINtec PLUS Ø	0
		L1 + / CINtec PLUS Ø	- 1
L 1 :	negativ	L1 + / CINtec PLUS +	1
		L1 Ø / CINtec PLUS +	2

Kein Risiko Score 0; geringes Risiko Score 1 – 3; erhöhtes Risiko Score 4 – 5; hohes Risiko Score 6

Befund:

Zytoprognosescore nach Neis: 6

Empfehlung:

Konisation: LEETZ / LOOP

Unterschrift

Kolposkopischer Befund: T2, kleiner Bereich major change 1°, V. a. CIN 2-

Histologischer Befund:

Cx-Abr. u. PE: CIN 3, am 02.03.2016

Die untersuchten Frauen stellen sich in der Regel 8 - 14 Tagen nach der Untersuchung zur Besprechung vor. Hierbei werden alle erhobenen Befunde, inklusive des histologischen Ergebnisses der Biopsien, erläutert und diskutiert. Gemeinsam mit der Patientin wird entschieden, ob weiter zugewartet werden kann oder eine operative Therapie erforderlich ist. Bei Vorliegen einer CIN3 wird immer zur operativen Therapie geraten. Die Aufklärung erfolgt sowohl in freier Form als auch anhand

eines schriftlichen Aufklärungsbogens. Die Beratung beachtet die Prinzipien des Shared-Decision-Making beachtet [95].

Die Operation selbst erfolgt individualisiert als Hochfrequenzschlingenresektion als Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) bzw. als Loop Electrosurgical Excision Procedure (LEEP) unter kolposkopischer Sicht. Der histologische und kolposkopische Befund, sowie der geplante operative Eingriff, wird in einem Brief an den zuweisenden Arzt differenziert beschrieben.

3.2 Pseudonymisierung, Ethikvotum

Alle Frauen, bei denen die histologische Diagnose einer CIN3 gestellt wurde, wurden selektiert und nach Pseudonymisierung aufgearbeitet und analysiert. Das Protokoll über das geplante Procedere wurde der Ethikkommission des Saarlandes vorgelegt und genehmigt (Ethikantrag bei der Ärztekammer des Saarlandes: Kenn-Nr. 64-18). Alle 300 Patientinnen wurden angeschrieben und um Zustimmung für die Auswertung Ihrer Daten gebeten. Diese wurde in keinem Fall verweigert.

3.3 Epidemiologie und Altersverteilung der CIN3

Um die altersspezifische Verteilung darzustellen wurden die 300 Fälle mit CIN3, beginnend mit dem 20. Lj. in 5 Jahresschritte eingeteilt und mit den Daten des Epidemiologischen Krebsregisters des Saarlands verglichen.

3.4 Zytologie

Die zytologischen Befunde im Einsendelabor wurden nach den Vorgaben der Qualitätssicherungsvereinbarung Zervix-Zytologie erstellt und kontrolliert [96]. Die Erstellung der LBC erfolgte mittels „Thin-Prep-Technologie“ nach den Empfehlungen der Firma „Hologic“. Die Beurteilungen und Diagnosestellungen erfolgte unter Verwendung der Nomenklatur München III [12].

3.5 HPV-Diagnostik

Die HPV-Diagnostik wurde mit dem Hybrid Capture 2 HPV-DNA-Test[®] der Firma `DIGINE` durchgeführt. Dieser ermöglicht die Bestimmung einer Gruppe mit 13 high-risk-HPV-Genotypen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). Diese werden als HR -Typen bezeichnet, da bei ihnen die Induktion hochgradiger Läsionen und invasiver Karzinome gesichert ist. Es liegt eine umfassende FDA-Zulassung vor. Der HC2-Test gilt als Goldstandard bei der Evaluierung neuer HPV-Tests [54]. Es handelt sich hierbei um einen in vitro Mikroplatten-Essay. Es wird eine Hybridisierung durchgeführt, die mittels Chemie-Lumineszenz eine quantitative Diagnostik erlaubt. Die HPV-Diagnostik unterliegt einer kontinuierlichen Qualitätssicherung. Die benutzten Geräte werden regelmäßig gewartet. Bei jedem Untersuchungsgang werden Kontrollproben mit untersucht. Hierüber wird bei jedem Untersuchungsgang ein Kontrollbericht angefertigt. Seit 2019 sind Ringversuche obligat.

3.6 Genotypisierung

Zur Genotypisierung wurde der vom selben Hersteller angebotene Test für die HPV-Genotypen 16, 18 und 45 benutzt, welcher ebenfalls auf der Hybridisierungstechnologie der HC2-Technologie basiert. Diese drei HPV-Typen werden als Typen mit hohem onkogenen Potential bezeichnet, da sie zusammengenommen in über 80% für die Entstehung von Karzinomen verantwortlich sind [34, 97].

3.7 Biomarker

3.7.1 CINtec plus p16/Ki67

Der Biomarker CINtec plus besteht aus zwei Komponenten. Zum einen dem Protein p16, welches den Zellzyklus kontrolliert. Der Nachweis einer gleichzeitig vorliegenden Proliferation erfolgte über den Marker Ki67. Die Darstellung der beiden Biomarker erfolgte immunzytochemisch, wobei zur Detektion von p16 bei der Zytodiagnostik üblicherweise ein brauner Farbstoff (DAB ICH Detection Kit) und für Ki67 ein roter Farbstoff (Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit) benutzt wurde. Nur wenn beide Marker in derselben Zelle gleichzeitig nachgewiesen werden können, wird der Befund als positiv bezeichnet. Die Extraktion der Zellen erfolgte aus dem Vial der Firma Hologic, aus dem auch die LBC hergestellt wird. Die Darstellung von p16 und Ki67 erfolgte nach den Vorgaben der Firma ROCHE-Diagnostics (manuelle CINtec plus Testkit (p/N:06595367001)).

4.7.2 L1

Bei L1 handelt es sich um das L1-Kapsidprotein des HP-Virus. Die Darstellung des L1-Kapsides erfolgte nach den Vorgaben der Firma Cytoimmun [98].

3.8 Histologie

Die histologische Diagnostik erfolgte in einem pathologischen Institut, mit Schwerpunkt in der Gynäko-Pathologie (Prof. Dr. H. Griesser, Köln). Die abschließende histologische Begutachtung wurde stets nach dem 4-Augen-Prinzip durchgeführt, so dass in allen Fällen der Erstbefund durch einen zweiten Pathologen/-in bestätigt oder korrigiert wurde. In Zweifelsfällen schloss sich eine weitergehende immunhistologische Diagnostik mittels p16 am histologischen Schnitt an.

3.9 Dokumentation

Die oben genannten Parameter wurden in einem standardisierten Arztbrief mit digitaler Fotodokumentation des Kolposkopie-Befundes, sowie separat die Ergebnisse des individuellen Zytoprofils, dokumentiert und die Befunde an die zuweisenden Ärzte verschickt. Es erfolgte die Zusammenführung aller Befunde als digitale Erfassung in einer EXEL-Tabelle. Diese Tabelle diente als Grundlage für die Auswertung der erfassten Daten, welche die Enddiagnose CIN3 aufwiesen. Von diesen fanden wiederum nur diejenigen Berücksichtigung, bei denen alle Daten vorlagen. Ausgeschlossen wurden alle glandulären intraepithelialen Neoplasien (AIS). Auf die nachträgliche

Bestimmung fehlender oder unklarer Befunde wurde, trotz der Möglichkeit des Zugriffs auf die zugehörigen „Vails“, insbesondere aus Gründen des Datenschutzes, bewusst verzichtet. Stattdessen wurde die Rekrutierungszeit verlängert, um die für einen Vergleich mit großen internationalen Studien, unseren Erachtens nach notwendigen 300 Fälle zu erreichen.

3.10 Literaturrecherche

Der Literaturrecherche lagen zwei Ziele zu Grunde. Zum einen sollte zu Beginn der Arbeit das zur Verfügung stehende Wissen zu den einzelnen Parametern beleuchtet werden. Zum anderen war es notwendig die von uns erhobenen Daten und deren Interaktion mit der vorliegenden Literatur zu vergleichen.

Die Literaturrecherche erfolgte primär in pubmed, Medline, Embase, Biological Abstracts, und the Cochrane Register of controlled trials nach folgenden Keywords:

- CIN3 + epidemiology
- CIN3 + cytology
- CIN3 + histology
- CIN3 + HPV
- CIN3 + HPV high-risk
- CIN3 + HPV 16/18/45
- CIN3 + CINtec plus p16/Ki67
- CIN3 + L1
- Cervical cancer + HPV
- Cervical cancer + Ko-Test
- CIN3 + remission
- CIN 3 + progression
- CIN 3 + postmenopause

Zusätzlich wurden nationale und internationale Krebsregister eingesehen.

Die Literaturrecherche erfolgte primär bis zum Jahre 1990. Grundlegende Arbeiten zur Zytologie wurden bis zum Jahre 1928, der Erstpublikation von G. N. Papanicolaou zur Zytodiagnostik, bzw. bis 1974, der Erstpublikation zum HPV-Test von H. zur Hausen, verfolgt.

Aus den eingesehenen Abstracts von Publikationen wurden letztendlich 247 Literaturstellen als für diese Arbeit relevant identifiziert, eine Bibliothek mit Originaltexten erstellt und jede dieser Veröffentlichungen detailliert bearbeitet. Für die Erstellung der vorliegenden Arbeit fanden letztendlich 162 Publikationen Berücksichtigung. Diese wurden in das Literaturverzeichnis eingestellt.

4. Ergebnisse

4.1 Zytologie

Bei 300 Frauen wurde im Zeitraum von 2009-2017 im Rahmen einer Dysplasie-Sprechstunde die Diagnose CIN3 gestellt und konnten in die Studie aufgenommen werden. Geht man von einer Häufigkeit plattenepithelialer CIN3 von durchschnittlich 0,17% in der deutschen Screening-Population aus, so entspricht dies einer Gesamtzahl von ca. 175.000 Patientinnen, welche an der Krebsvorsorge teilgenommen haben. Somit handelt es sich um eine der umfangreichsten prospektiv erfassten kolposkopisch untersuchten und histologisch abgeklärten monozentrischen Studien. Es werden bezüglich der CIN3 die Fallzahlen der wichtigsten internationalen Studien zu dieser Thematik [80, 92] erreicht.

Da die CIN3 klinisch asymptomatisch verläuft, wird sie mit Ausnahme weniger Zufallsbefunde, ausschließlich zytologisch gestellt. Die Ergebnisse der zytologischen Diagnosen, welche im Rahmen der Abklärung letztendlich eine CIN3 ergaben, sind in Tabelle 1.0. dargestellt.

Tabelle 1: Verteilung der zytologischen Befunde anhand der Münchner Nomenklatur III, dem Bethesda-System und der histologischen Diagnose

Zytologische Diagnose			Histologische Diagnose		
Nomenklatur München III	Bethesda-System		CIN III / CIS		Invasives Plattenepithelkarzinom
Gruppe IIp	ASCUS	4 (1,3%)	4 (1,3%)	4 1,3%	
Gruppe IIIp	ASC – H	35 (11,7%)	35 (11,7%)	44 14,7%	-
Gruppe IIIg	AGC	9 (3,0%)	9 (3,0%)		
Gruppe IID1	LSIL	8 (2,7%)	8 (2,7%)	18 6,0%	
Gruppe IID2 (mässiggradig)	HSIL	10 (3,3%)	10 (3,3%)		-
Gruppe IVa-p (schwer + CIS)	HSIL	217 (72,3%)	214 (71,3%)	234 78%	3x pT1a1
Gruppe IVb-p (Invasion nicht auszuschließen)	HSIL with features suspicious for invasion	17 (5,7%)	12 (4,0%)		2x pT1a1 3x pT1b1
Total		300		300	

Aus unserem Patientinnenkollektiv wurden 217 (72,3%) Fälle mit der histologischen Diagnose CIN3 in die analoge zytologische Gruppe IVa-p eingeordnet. Gleiches gilt für die Befunde der Gruppe IVb-p, welche in 17 Fällen (5,7%) beschrieben wurden. So sind es insgesamt 234 Patientinnen, entsprechend 78,0%. 35 Patientinnen (11,7%) wurden in die Gruppe IIIp eingeordnet. Nimmt man hier die Gruppe IIIg (9 Patientinnen – 3,0%) hinzu, so kommt man auf 44 Patientinnen (14,7%). Auch die Einordnung in die Gruppe IID2 impliziert nach dem neuen Abklärungsalgorithmus eine zeitnahe

Abklärung. Dies bedeutet, dass die 4 Patientinnen aus der Gruppe IIp (1,3%) sowie die 8 Patientinnen aus der Gruppe IIID1 (2,7%), zusammen 4%, erst in einem halben Jahr zu einer erneuten Untersuchung aufgefordert worden wären. Eine Gruppe 0 oder I ist in unserem Kollektiv nicht vorhanden.

Hinter der Diagnose CIN3, welche histologisch bei der Kolposkopie und in der Biopsie von der Portiooberfläche gestellt wurde, verbarg sich in wenigen Fällen in der Tiefe des Gebärmutterhalses ein invasives Karzinom. Diese Diagnose wurde jedoch erst am Konus bzw. am Operationspräparat des Uterus gestellt. In 5 von 300 Fällen (1,7%) lag ein Zervixkarzinom im Stadium pT1a1 vor. In 3 von 300 Fällen (1,0%) wurde am Hysterektomiepräparat ein ICC nachgewiesen. Somit kann auch, wenn kolposkopisch und bioptisch eine CIN3 diagnostiziert wurde, ein invasives Karzinom nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Tabelle 2: Zytologische Befunde mit altersspezifischer Verteilung. Fett dargestellte/abklärungsbedürftige Befunde wurden richtigerweise umgehend in der Dysplasiesprechstunde vorgestellt.

Altersgruppe	20 – 34	35 – 49	50 +	Total
Gruppe IIp	2	2	0	4
Gruppe IIIp	16	11	8	35
Gruppe IIIg	4	3	2	9
Gruppe IIID1	5	2	1	8
Gruppe IIID2	6	3	1	10
Gruppe IVa-p	5	9	3	17
Gruppe IVb-p	129	66	22	217
Total	167	96	37	300
Abklärungsbedürftige Befund	160 (95,8%)	92 (95,8%)	36 (97,3%)	288 (96,0%)

Die zytologischen Befunde wurden ebenfalls altersspezifisch untersucht. In den verschiedenen Altersklassen zeigen sich keine substantiellen Unterschiede. In der Gesamtschau kann festgestellt werden, dass durch die Einordnung in die jeweiligen Gruppen IIIp, IIIg, IIID2, IVa-p, IVb-p unter Zugrundelegung des neuen Abklärungsalgorithmus in 96,0% (Tabelle 2, **fett** geschrieben) eine zeitnahe kolposkopische Abklärung erfolgt wäre.

4.2 Epidemiologie und altersspezifische Verteilung

Die altersspezifische Verteilung der CIN3 wurde ab dem 20. Lj. in 5-Jahres-Alterskohorten erfasst. Bis zum Ende des 34. Lj. waren bereits 55,7% der CIN3 - Fälle diagnostiziert. Zum Zeitpunkt des Klimakteriums bzw. dem Eintritt in die Postmenopause zwischen dem 50. und dem 55. Lj. war die

Diagnose der CIN3 bereits in 94,3% der Fälle gestellt worden. Nach dem 55. Lj. trat eine CIN3 lediglich noch in 5,7% auf, nach dem 65. Lj. nur noch in ca. 1 %. Es zeigt sich, dass die CIN3 eine Erkrankung der jüngeren Frau ist.

Tabelle 3: Altersspezifische Verteilung der 300 CIN3-Fälle

Altersverteilung	n=300	
20-24	20 (6,7%)	167 (55,7%)
25-29	64 (21,3%)	
30-34	83 (27,7%)	
35-39	38 (12,7%)	263 (87,7%)
40-44	33 (11,0%)	
45-49	25 (8,3%)	
50-54	20 (6,7%)	283 (94,3%)
55-59	8 (2,7%)	291 (97,0%)
60-64	6 (2%)	297 (99,0%)
65-69	2 (0,7%)	Über 65Lj 1,0%
70-74	1 (0,3%)	

Die Altersverteilung der CIN3 zeigt ein eindrückliches Bild mit einem steilen Anstieg bis zum 35. Lj. und einem steilen Abfall bis zum 50. Lj.. Danach werden nur noch wenige CIN3-Fälle diagnostiziert.

Um unser Kollektiv mit dem des Saarländischen Krebsregisters abzugleichen, wurde über das Balkendiagramm eine Kurve gelegt, welche alle in diesem Zeitraum im Saarland personenbezogene CIN3 -Fälle beinhaltet. Es zeigt sich, ein Peak zwischen dem 30. – 34. Lj., sowie ein Median bei 34 Jahren. Die beiden Darstellungen verlaufen kongruent.

Abbildung 17: Balkendiagramm des Saarländischen Krebsregisters zur Altersverteilung der Inzidenz der Neuerkrankungen der Jahre 2012 - 2016

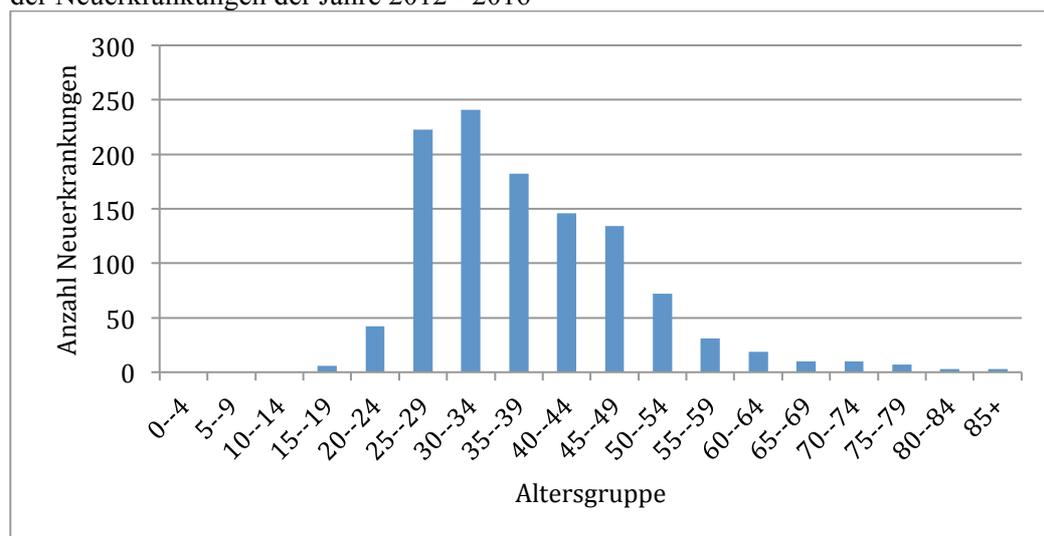
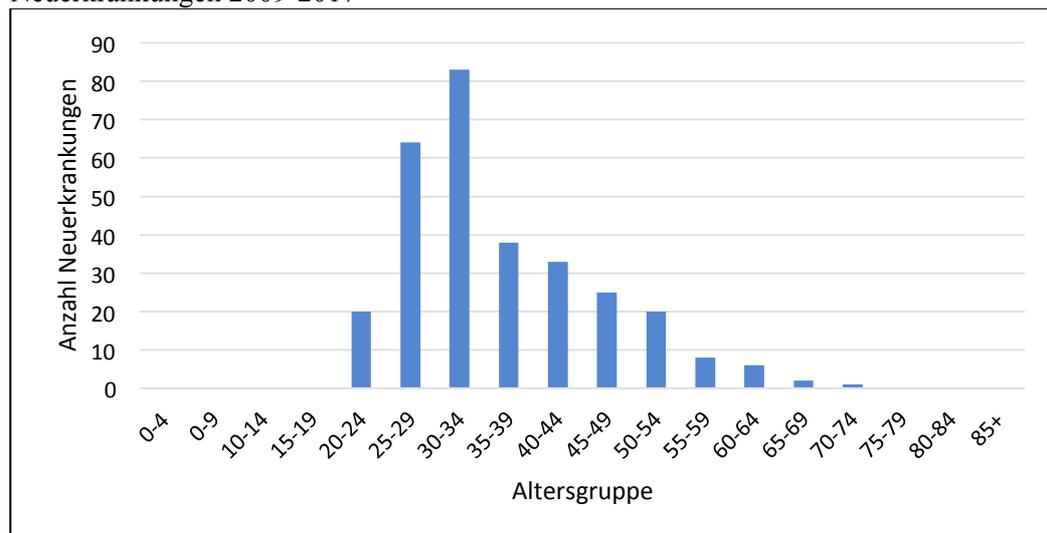


Abbildung 18: Balkendiagramm unserer Daten zur Altersverteilung der Inzidenz der Neuerkrankungen 2009-2017



4.3 HPV-Diagnostik

Bei allen 300 Patientinnen mit der Enddiagnose CIN3 wurden sowohl das Spektrum der HR-HPV-Viren, als auch das Spektrum der hochonkogenen Typen 16/18/45 untersucht. Die Darstellung beider Gruppen erfolgte mit dem Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test TM (HC2-Test) der Firma DIGINE.

4.3.1 HR HP-Viren

Für eine altersspezifische Analyse erschien es uns sinnvoll drei Altersgruppen zu erstellen. Die erste Gruppe umfasst die Frauen vom Anbeginn des Screenings, d.h. ab dem 20. Lj., bis zum Peak der CIN3 um das 35. Lj.. Die zweite Gruppe beinhaltet den abfallenden Schenkel der Inzidenz der CIN3 vom 35. bis zum 49. Lj.. Nach dem 50. Lj. wird die CIN3 nur noch selten diagnostiziert. Daher wurden alle Frauen ab diesem Zeitpunkt, welcher biologisch auch die Phase der Peri- und Postmenopause beinhaltet, in dieser Gruppe zusammengefasst.

Tabelle 4: Positiver Nachweis von HR HPV - altersspezifische Verteilung

Altersgruppe	20 – 34	35 – 49	50 +	Total
N=	167	96	37	300
HR-HPV positiv	167 (100%)	94 (97,9%)	37 (100%)	298 (99,3%)

Es zeigt sich, dass die HR HP-Viren bei 298/300 Frauen mit einer CIN3 positiv nachgewiesen wurden, was somit in durchschnittlich 99,3% (97,9 – 100%) der Patientinnen der Fall war. Dies bedeutet wiederum, dass bei nur 2 Frauen (0,7%) eine CIN3 vorlag ohne dass HR-HPV mit dem HC2-Test nachgewiesen werden konnte.

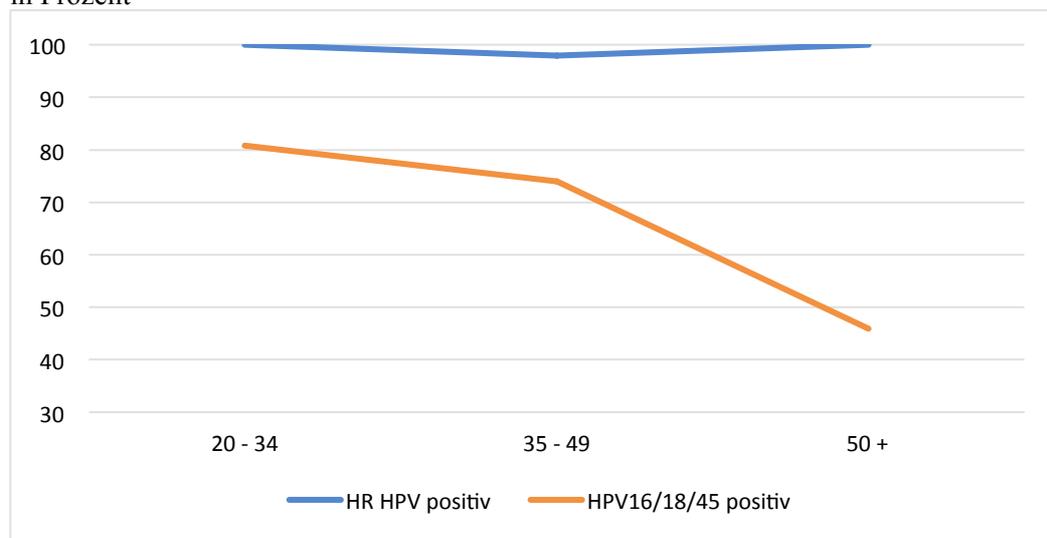
4.3.2 HPV-Genotypen 16/18/45

HPV16/18/45 wurde seltener nachgewiesen, als HR HPV. Lediglich 74,3% (223/300) aller Frauen zeigen eine positive Reaktion auf diese hochonkogenen Genotypen. Während der Anteil positiver Befunde aus der HR-Gruppe in den unterschiedlichen Altersklassen annähernd gleich ist, findet sich bei der HPV-Genotypisierung ein anderes Ergebnis. Es finden sich deutliche Unterschiede in den einzelnen Altersgruppen. Sind es in der Gruppe der 20-34-jährigen Frauen noch 80,8%, so sinkt der Nachweis der HR HP-Viren in der Gruppe der mittelalten Frauen von 35 - 49 Jahren auf 74,0% und bei den über 50-jährigen Frauen auf 45,9% ab.

Tabelle 5: HR HPV und HPV16/18/45 positiv - altersspezifische Verteilung

Altersgruppe	20 - 34	35 - 49	50 +	Total
N=	167	96	37	300
HR HPV positiv	167 (100%)	94 (97,9%)	37 (100%)	298 (99,3%)
HPV16/18/45 positiv	135 (80,8%)	71 (74,0%)	17 (45,9%)	223 (74,3%)

Abbildung 19: Altersspezifische Verteilung bei positivem Nachweis von HR HPV und HPV16/18/45 in Prozent



4.4 Biomarker

4.4.1 CINtec plus p16/Ki67

Der Biomarker CINtec plus p16/Ki67 zeigt als Ausdruck einer Integration des Virusgenoms in die Zelle, einer sogenannten Transformation, in 286/300 Fällen (95,3%) eine positive immunzytochemische Reaktion.

Tabelle 6: CINtec plus p16/Ki67 positiv - altersspezifische Verteilung

Altersgruppe	20 – 34	35 – 49	50 +	Total
N=	167	96	37	300
CINtec plus p16/Ki67 positiv	159 (95,2%)	92 (95,8%)	35 (94,6%)	286 (95,3%)

Bei der Altersverteilung zeigt sich für CINtec plus p16/Ki67 eine stabile Verteilung von 94,6% bis 95,8% und somit kein substantieller Unterschied.

4.4.2 L1

L1 lässt sich insgesamt in 11,0% der Fälle (33/300) nachweisen. Es dominieren die L1-negativen Fälle in den einzelnen Altersklassen mit 87,4% - 91,7% - 89,2%. Somit lässt sich bzgl. des Verhaltens in den einzelnen Altersgruppen für L1 kein substantieller Unterschied darstellen.

Tabelle 7: L1 positiv/negativ - altersspezifische Verteilung

Altersgruppe	20 - 34	35 - 49	50 +	Total
N=	167/300	96/300	37/300	300/300
L1 negativ	146 (87,4%)	88 (91,7%)	33 (89,2%)	267 (89,0%)
L1 positiv	21 (12,6%)	8 (8,3%)	4 (10,8%)	33 (11,0%)

4.5 Kombination der Biomarker CINtec plus p16/Ki67 in Korrelation zu L1

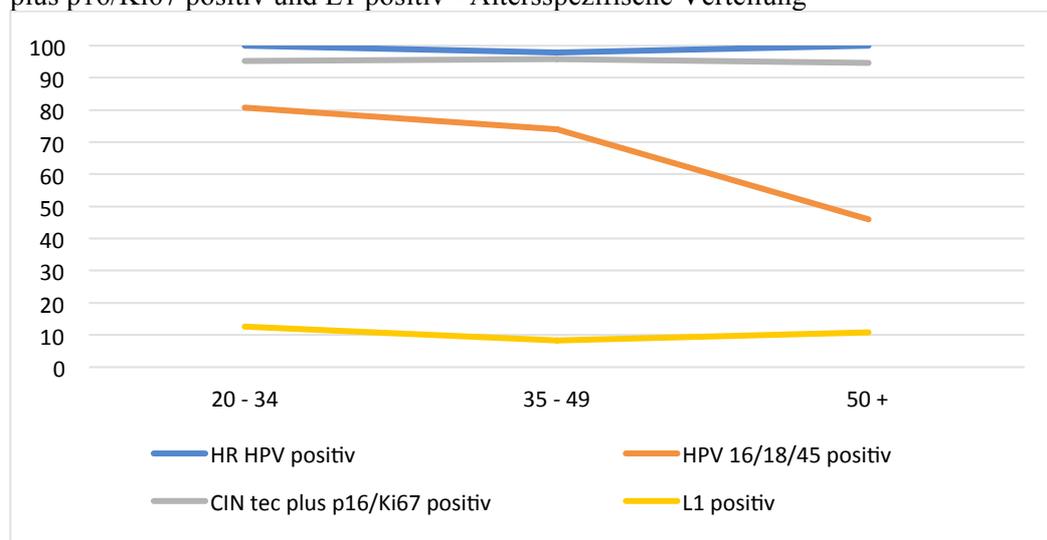
Die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 positiv ist selten und lässt sich in lediglich 10,1% nachweisen. Betrachtet man jedoch die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 negativ, so findet sich diese Konstellation bei 89,9% (257 Patientinnen). Aufgrund der Häufigkeit kann man daher von einer typischen Konstellation bei der zervikalen intraepithelialen Neoplasie Grad 3 sprechen.

Tabelle 8: CINtec plus p16/Ki67 positiv in Korrelation zu L1 negativ/positiv

Altersgruppe	20 - 34	35 - 49	50 +	Total
Total CINtec plus p16/Ki67 positiv	159 (100%)	92 (100%)	35 (100%)	286 (95,3%)
CINtec plus p16/Ki67 positiv + L1 negativ	140 (88,1%)	84 (91,3%)	33 (94,3%)	257 (89,9%)
CINtec plus p16/Ki67 positiv + L1 positiv	19 (11,9%)	8 (8,7%)	2 (5,7%)	29 (10,1%)

Bei der altersspezifischen Verteilung zeigt sich, dass die Kombinationen CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 negativ in den einzelnen Gruppen keinen signifikanten Unterschied zeigt. Umgekehrt ist es mit der Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 positiv, wo von der Gruppe der jüngeren Frauen mit 11,9% ein Abfall bei den Frauen über 50 Jahren auf 5,7% beobachtet wird. Aufgrund der geringen Fallzahl muss dieses Verhalten mit Vorsicht interpretiert werden.

Abbildung 20: Graphische Darstellung der Verteilung HR HPV positiv, HPV 16/18/45 positiv, CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 positiv - Altersspezifische Verteilung



4.6 Sonderauswertung

Die Parameter, welche sich anders verhielten als zu erwarten, wurden in Subgruppen nochmals analysiert.

4.6.1 HR HPV negativ

Es handelt sich hierbei um 2 Fälle mit negativem HR-HPV aus einer Altersgruppe, entsprechend 0,7% (n = 2/300). Auffallend ist, dass in diesen Fällen CINtec plus p16/Ki67 positiv ist. Da CINtec plus p16/Ki67 und L1 nur bei HPV positiven zervikalen intraepithelialen Neoplasien gefunden werden, ist davon auszugehen, dass die jeweilige CIN3-Läsion HPV positiv ist.

Tabelle 9: HR HPV negativ - CINtec plus p16/Ki67 positiv

Alter	zytologische Gruppe	HR HPV	HPV16/18/45	CINtec plus p16/Ki67	L1
37	IVa-p	negativ	negativ	positiv	negativ
39	IVa-p	negativ	negativ	positiv	negativ

4.6.2 CINtec plus p16/Ki67 negativ

Bei der histologischen Diagnose einer CIN3 zeigte sich in 14 Fällen kein CINtec plus p16/Ki67 positiver Befund. Bei der Einzelanalyse zeigt sich, dass lediglich in 5 von den 14 Fällen die zytologische Diagnose IVa-p, sowie 1x IVb-p lautete. Dies entspricht einem Anteil von 42,8% bezogen auf die 14 CINtec plus p16/Ki67 negativen Fälle. Gegenüber dem Gesamtanteil von IVa-p/IVb-p von 78,0% (234/300 Patientinnen). Hierbei finden sich die Diagnosen IIp 1x, IIIp 4x, IIIg 1x und IIID1 2x. Somit enthielt in 8 Fällen das „Vial“ aus dem das Material für die zytologische Diagnostik, sowie die molekularbiologische Untersuchung entnommen werden möglicherweise keine Zellen welche spezifisch einer CIN3 zuzuordnen sind.

Tabelle 10: CINtec plus p16/Ki67 negativ

	Alter	Zytologische Gruppe	HR HPV	HPV 16/18/45	CINtec plus p16/Ki67	L1	endgültige Histologie
1	36	IIp	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
2	29	IIIp	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
3	47	IIIp	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
4	24	IIIp	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
5	40	IIIp	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
6	58	IIID1	positiv	negativ	negativ	positiv	CIN 3
7	31	IIID1	positiv	negativ	negativ	positiv	CIN 3
8	30	IIIg	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
9	31	IVa-p	positiv	positiv	negativ	positiv	CIN 3
10	59	IVa-p	positiv	negativ	negativ	positiv	CIN 3
11	25	IVa-p	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
12	30	IVa-p	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
13	22	IVa-p	positiv	positiv	negativ	negativ	CIN 3
14	41	IVb -p	positiv	positiv	negativ	negativ	pT1b1

Die oben aufgeführten 14 Fälle wurden einem Zweitbefunder vorgelegt. Hierbei bestätigte sich in 10 Fällen der Befund CINtec plus p16/Ki67 negativ. In 4 Fällen fand sich eine dezente immunzytologische Reaktion. Eine typische kräftige Anfärbung, wie man sie beim Vorliegen einer höhergradigen Dysplasie erwartet, lag jedoch nicht vor. Somit kam der Immunzytologie in diesen Fällen keine klinische Bedeutung zu. Daher wurden auch im Review alle Fälle als CINtec plus p16/Ki67 negativ befundet.

4.6.3 L1 positiv

L1 ist in 33 von 300 Fällen positiv. Bei der Einzelanalyse zeigt sich, dass lediglich in 22 Fällen die zytologische Diagnose IVa-p, sowie einmal IVb-p lautete. Dies entspricht einem Anteil von 73,3%. Gegenüber dem Gesamtanteil von IVa-p / IVb-p von 78,0% (234/300 Patientinnen). Hierbei finden sich die Diagnosen IIIp 3x, IIID1 4x und IIID2 3x. Somit enthielt möglicherweise in 10 Fällen das Vial aus dem das Material für die zytologische Diagnostik, sowie die molekularbiologische Untersuchung entnommen werden, nicht ausreichend Zellen, welche spezifisch einer CIN3 zuzuordnen sind.

4.6.3.1 Altersspezifische Verteilung L1 positiv

In der Altersgruppe der 25-34-Jährigen (25-29.Lj. n = 10, sowie 30.-34. Lj. n = 9) finden sich die meisten Frauen mit einem Befund, welcher L1 positiv ist. Bedenkt man jedoch, dass in dieser Altersgruppe auch die meisten CIN3-Fälle auftreten, so relativiert sich die Bedeutung dieses Phänomens.

Tabelle 11: L1 positiv - Altersspezifische Verteilung

Alter	n=33	Altersgruppen
20-24	2	12,6% (von n=167)
25-29	10	
30-34	9	
35-39	3	8,3% (von n=96)
40-44	4	
45-49	1	
50-54	1	10,8% (von n=37)
55-59	2	
60-64	0	
65-69	1	
70-74	0	

Bezieht man die Zahl der Frauen, bei denen L1 nachgewiesen wurde jedoch auf die Gesamtzahl in den drei Altersklassen, so findet sich eine Verteilung von 12,6% - 8,3% und 10,8%. Somit lässt sich auch hier kein substantieller Unterschied nachweisen.

4.6.4 Ko-Test

Im Hinblick auf einen Ko-Test (Kombination von Zytologie und HPV-Diagnostik) wurden die Daten ebenfalls ausgewertet. Es zeigt sich für den HPV-Test alleine eine Spezifität von 99,3% (298/300). Für die Zytologie werden zur Errechnung der Spezifität all die Fälle mit einbezogen, welche eine zeitnahe Abklärung erforderlich machen. Dies trifft, außer bei der Gruppe IVa-p und IVb-p, auch für die

Gruppen IIIp und IIIg und nach dem neuen Abklärungsalgorithmus auch für die Gruppe IID2 zu. Diese umfassen 288/300 Patientinnen, entsprechend 96,0%.

Da in allen Fällen mit einem negativen HR-HPV-Test eine positive Zytologie vorlag und dies auch umgekehrt der Fall war, liegt die Sensitivität des Ko-Testes in unserem Krankengut bei 100%.

Tabelle 12: Zytologie und HR HPV-Test selektiv vs. Ko-Test

Altersgruppe	20 - 34	35 - 49	50 +	Total
n=	167	96	37	300
HR HPV-Test positiv	167 (100%)	94 (97,9%)	37 (100%)	298 (99,3%)
Zytologie positiv	160 (95,8%)	92 (95,8%)	36 (97,3%)	288 (96,0%)
Ko-Test Zytologie und/oder HR HPV positiv	167 (100%)	96 (100%)	37 (100%)	300 (100%)

5. Diskussion

Das Zervixkarzinom ist heute weltweit das 4. häufigste Malignom bei Frauen und stellt die häufigste Todesursache bei Frauen unter dem 45. Lj. dar [1]. In den 60er und 70er Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurden v.a. in den USA, Europa und Australien Screeningprogramme etabliert, deren Ziel es war, die Inzidenz des ICC zu senken [6]. Sie beruhten auf der Entdeckung von Papanicolaou, welcher zeigen konnte, dass mit Hilfe von Abstrichen vom Gebärmutterhals sowohl das invasive Karzinom als auch deren Vorstufen erkannt werden können. Diese Vorstufen werden in der heute in Deutschland gültigen Klassifikation München III [12] als zytologisch leichte Dysplasien (Gruppe IID1), mittelschwere Dysplasien (Gruppe IID2) und schwere Dysplasien/CIS (Gruppe IVA) bezeichnet. Diesen entsprechen die histologischen Diagnosen CIN1, CIN2 und CIN3 wie sie von der WHO zuletzt 2014 festgelegt wurden [99].

Die unmittelbare Vorstufe vor dem invasiven Karzinom ist die zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 3. Durch das zytologiebasierte Screening wurde es möglich diese Läsion gezielt zu entdecken und zu therapieren [8]. Die Therapie besteht in der sogenannten Konisation. Früher wurde eine Messerkonisation durchgeführt, heute ist die Methode der Wahl, die Hochfrequenzschlingenresektion LLETZ (Large Loop Excision of the Transformation Zone) oder LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure) [100]. Durch die Eliminierung der Vorstufen, insbesondere der CIN3 wird die Entstehung eines invasiven Karzinoms verhindert. Nach der Einführung des Zervixkarzinomscreenings im Jahre 1971 kam es in Deutschland somit zu einem steilen Abfall der Inzidenz. Seit Ende der 90er Jahre beobachtet man in Deutschland, als auch in anderen Ländern nur noch einen mäßigen Abfall der Inzidenz [16].

Während die Vorstufen CIN1 und CIN2 einer erheblichen Dynamik unterliegen, geht die CIN3, bei einer Beobachtungsdauer von 30 Jahren, in mindestens 50% in ein invasives Karzinom über [40]. Ob letztendlich sogar jede oder fast jede CIN3 in ein invasives Karzinom übergeht ist auch heute noch unklar, da Langzeitbeobachtungen über mehr als 3 Dekaden fehlen. Tatsache ist jedoch, dass mit der operativen Entfernung einer, ggf. zweier CIN3 ein ICC mit einer Latenzzeit von 10 Jahren und mehr verhindert wird [74].

Da in den letzten Jahren weltweit zunehmend klar wurde, dass der zusätzliche oder primäre Einsatz des HPV-Testes die Sensitivität des Screenings erhöht, wurde auch in Deutschland die neue Screeningstrategie nach dieser Erkenntnis ausgerichtet [101-104]. Diese zentrale Stellung der CIN3 bei der Früherkennung des Gebärmutterhalskrebses hat uns veranlasst, diese Läsion sowohl epidemiologisch als auch mit allen derzeit kommerziell zur Verfügung stehenden morphologischen, virologischen und molekularbiologischen Methoden zu untersuchen.

Diese kommerziell erhältlichen Zusatzuntersuchungen zur Zytologie gehören heute zur Routine in allen Laboratorien, welche sich mit der Thematik zur Krebsvorsorge des ICC befassen. Unter Studienbedingungen wurden diese Parameter bereits ausführlich untersucht. Die Studien wurden jedoch zum größten Teil von den Firmen finanziert, welche entsprechende Produkte herstellen [80, 92]. Bedeutsam ist auch die Tatsache, dass bei insbesondere prospektiven und multizentrischen Studien immer spezielle Rahmenbedingungen gelten. Dies betrifft sowohl den Ein- und Ausschluss von Patientinnen oder Patientengruppen, aber auch die gezielte Zweitkontrolle von Befunden bei nicht konklusiven Befunden.

Es war daher interessant zu evaluieren, inwieweit diese Ergebnisse, insbesondere die Sensitivität und Spezifität dieser Parameter unter „Real-World“-Bedingungen, mit den Ergebnissen der Studienpopulationen übereinstimmen. Hierdurch ist es möglich einerseits die Reproduzierbarkeit der diagnostischen Tests, als auch die Laborqualität von Versorgungslaboratorien zu beleuchten.

Da aus epidemiologischer Sicht zu erwarten stand, dass die altersspezifische Analyse unterschiedliche Ergebnisse in verschiedenen Altersgruppen zeigen könnten, haben wir unsere Resultate auch altersspezifisch evaluiert. Eine Besonderheit der vorliegenden Studie ist, dass sie monozentrisch durchgeführt wurde und die Daten alle prospektiv erhoben und dokumentiert wurden. Im Unterschied zu zahlreichen, auch internationalen Untersuchungen, stammen diese Daten alle aus einer Hand. Die Screening-Zytologie und LBC-Zytologie, die HPV-Diagnostik und die Genotypisierung, aber auch die immunzytologische Darstellung der Biomarker CINtec plus p16/Ki67 und L1 wurden alle in einem Labor durchgeführt. Somit konnte sichergestellt werden, dass alle Frauen in gleicher Weise diagnostiziert und therapiert wurden.

Die 300 plattenepithelialen CIN3 entsprechen einer Screeningpopulation von etwa 175.000 Frauen. Es ist unseres Wissens nach die Größte Zahl an CIN3-Fällen, welche insbesondere unter den strengen Kriterien der prospektiven Erfassung, parallel mit allen derzeit kommerziell erhältlichen Zusatzmethoden, untersucht wurden. So werden in den größten internationalen Studien, welche sich mit dem Vergleich der Sensitivität von Zytodiagnostik und HPV-Test befasst, der ATHENA-Studie, 285 Fälle von CIN3 diagnostiziert [92]. In der PALMS-Studie, einer multizentrischen europäischen Studie zur Evaluierung der Sensitivität von CINtec plus p16/Ki67 wurden 205 Fälle einer CIN2+ und 111 CIN3 detektiert [80]. Um einen soliden Vergleich mit den Ergebnissen dieser Studienpopulationen durchführen zu können, haben wir in unserem Untersuchungsgut eine ähnliche Fallzahl an CIN3-Fällen angestrebt.

Epidemiologie und Altersverteilung der CIN3

Epidemiologie und Altersverteilung der CIN3 zeigen, dass es sich um eine Erkrankung der jüngeren Frau handelt. Die ersten Erkrankungen treten kurz vor dem 20. Lj. auf. Ab dem 25. Lj. wird ein steiler Anstieg beobachtet. Der Gipfel liegt um das 35. Lj. und variiert in den epidemiologischen Krebsregistern der Bundesländer, in denen auch die Daten für die CIN3 veröffentlicht wurden, nur wenig. Nach dem 50. Lj. ist die CIN3 nur noch in 12,3% nachweisbar.

Diese Tatsache ist in Deutschland auch in Expertenkreisen noch nicht geläufig. Dies hängt damit zusammen, dass sich die epidemiologischen Krebsregister fast ausschließlich auf die invasiven Karzinome konzentrieren.

Allerdings werden seit einigen Jahren in den epidemiologischen Krebszentren auch die Fälle von CIN3 gesammelt und zunehmend publiziert. Der Vorteil des Saarländischen Krebsregisters besteht darin, dass die Daten der „in situ“- Befunde bereits seit dem Jahre 1971 erfasst wurden.

Die Altersverteilung unserer Fälle wurde mit einer Sonderauswertung der CIN3-Fälle, welche im epidemiologischen Krebsregister des Saarlandes hinterlegt sind, verglichen. Es zeigen sich für die Jahre 2009 – 2017 nahezu kongruente Verhältnisse.

Um das altersspezifische Verhalten der CIN3 zu beleuchten, wurden 3 Gruppen gebildet, welche sich an der Altersverteilungskurve der CIN3 orientieren. In einer Subanalyse wurden unsere Patientinnen zusätzlich in 5-Jahresschritten aufgeschlüsselt.

So treten zwischen dem 20. und 24. Lj. nur ca. 7% einer CIN3 auf. Es zeigt sich, dass bis zum 34. Lj. bereits über die Hälfte aller Fälle (55,7%) diagnostiziert wurden, bis zum 50. Lj. sind bereits fast 90% (87,7%) der CIN3 Läsionen detektiert. In der Postmenopause werden nur noch wenige, nach dem 55. Lj. nur noch 5,7%, nach dem 65. Lj. nur noch ca. 1% erkannt. Es könnte bedeuten, dass durch eine Intensivierung der Vorsorge vor dem 55. Lj. die Zahl der diagnostizierten CIN3-Fälle weiter erhöht werden kann. Dies wäre auch insofern sinnvoll als in dieser Phase günstigere Bedingungen zur Abstrichentnahme vorliegen als in der Postmenopause. Es bedeutet aufgrund der langen Verläufe aber auch, dass die wenigen CIN3, welche aktuell in der Postmenopause diagnostiziert werden, zu einem früheren Zeitpunkt erkannt werden könnten. Hierdurch könnte die jetzt schon geringe altersspezifische Inzidenz nach dem 50. Lj. weiter abgesenkt werden.

In der Diskussion um eine untere und obere Altersgrenze für die Früherkennung des ICC kommt der altersspezifischen Verteilung der CIN3 demnach eine hohe Bedeutung zu. Dies ist, selbst in Fachkreisen, bislang weitgehend unbekannt. Im nationalen Krebsplan für Deutschland wird die Definition der oberen und unteren Altersgrenze als Ziel genannt [71, 105, 106].

Auch bei der Neuausrichtung des Zervixkarzinomscreenings ab dem Jahr 2020, ist eine obere Altersgrenze noch nicht festgelegt. Führt man das Krebsfrüherkennungsprogramm des Gebärmutterhalskrebses jenseits des 65. Lj. weiter, so tritt der Gesichtspunkt der Prävention durch Erkennung der CIN in den Hintergrund. Im Vordergrund steht dann die Früherkennung des ICC. Dies ist insofern von Bedeutung, als auch in dieser Altersklasse die altersspezifische Inzidenz des ICC auf dem gleichen Niveau bleibt, wie in der Prämenopause (Abbildung 7, [16]). Es sind prinzipielle Überlegungen notwendig, wie man Inzidenz und Mortalität in dieser, wie unsere Daten zeigen, präventiv schwer zugänglichen Gruppe senken kann. Ohne die Klärung dieser Frage wird es nicht möglich sein die Inzidenz und die Mortalität des ICC weiter nennenswert zu senken. Diese Tatsache hat ebenfalls bislang kaum Eingang in die Diskussion zu dieser Problematik in Deutschland gefunden. Betrachtet man das Zentrum der Altersverteilungskurve genauer, so erkennt man vom 20. - 35. Lj. einen steilen Anstieg der Inzidenz welcher dann spitzwinklig fast genauso steil wieder abfällt. Ab dem 50. Lj. ist dann zunächst ein etwas langsamerer Abfall zu beobachten und ab dem 65. Lj. wird eine CIN3, wie oben beschrieben, kaum noch beobachtet. Der steile Anstieg zwischen dem 20. und 35. Lj. hängt unseren Erachtens nach damit zusammen, dass immuninkompetente Frauen, zu denen beispielsweise auch Raucherinnen gehören, relativ schnell nach der Erstinfektion mit einem HP-Virus erkranken. Diese Auffassung wird durch die Untersuchungen von Castle *et al.*, Jensen *et al.* und Roura *et al.* gestützt [107-110].

Der spitzwinklig steile Abfall nach dem 35. Lj. scheint ein Screeningeffekt zu sein. Ähnliche Kurvenverläufe konnte eine dänischen, sowie eine norwegische Arbeitsgruppe zeigen [111, 112]. Bei gezielter Durchsicht der internationalen Krebsregister sind wir bei Cancer Research United Kingdom (UK) auf eine Darstellung der altersspezifischen Verteilung der CIN3 gestoßen, welche den Daten des saarländischen Krebsregisters sehr ähnelt [113]. Auch in diesen Ländern handelt es sich, wie in Deutschland, um eine gut durchgescreeente Bevölkerung. Dass jenseits des 50. Lj. zunehmend weniger CIN3 diagnostiziert werden, muss ebenfalls als Screeningeffekt interpretiert werden. Offensichtlich entstehen mit zunehmendem Alter immer weniger CIN3: Neuinfektionen scheinen seltener zu sein und führen bei älteren, immunkompetenten Frauen, so sie denn vorkommen, seltener zu einer CIN3 [35]. Allerdings gilt es zu berücksichtigen, dass in dieser Altersgruppe von 50-80 Jahren die Teilnehmerate am Screening deutlich von 69,2% auf 16,3% abnimmt (Abbildung 8, [28]).

Bei Frauen im höheren Alter nimmt die altersspezifische Inzidenz des Gebärmutterhalskrebses nicht signifikant ab (Abbildung 2, [12]). Allerdings wird das Karzinom bei Frauen über dem 70. Lj. meist erst in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert [114], was mit hoher Wahrscheinlichkeit vor allem auf die Nicht-Teilnahme am Screening zurückzuführen ist [115-117]. Daher sollte, wie in anderen Publikationen empfohlen, auch in einem Alter jenseits des 60. Lj. weiterhin ein Screening durchgeführt werden [118]. Dieses Screening dient dann aber nicht in erster Linie der Senkung der

Inzidenz, sondern der Früherkennung des invasiven Karzinoms in einem noch gut therapierbaren Stadium. In diesen Fällen ist das Ziel die Verbesserung der Mortalität. Unabhängig davon, ist es ethisch kaum vertretbar, einer Patientin, welche zur allgemeinen frauenärztlichen Vorsorge kommt, ab einem bestimmten Alter, den Abstrich vom Gebärmutterhals vorzuenthalten. Dies gilt umso mehr, als die altersspezifische Inzidenz des invasiven Karzinoms, im Alter nicht abnimmt.

Erschwerend für eine adäquate Zellgewinnung ist, dass bei postmenopausalen Frauen mit zunehmendem Alter im hohen Maße eine Stenose des äußeren Muttermundes vorliegt, sodass die in diesem Alter hoch im Zervikalkanal liegende Transformationszone, in der sich das ICC und sein Vorläufer entwickeln, nicht erreicht werden kann. Ob der diesen Frauen bald zur Verfügung stehende Ko-Test diagnostische Vorteile bringt bleibt abzuwarten. Die Diskussion um die Situation der postmenopausalen Frauen wurde bislang nur wenig geführt, ist es aber in der sich verändernden Gesellschaft wert gezielt aufgenommen zu werden.

Was die untere Altersgrenze anbelangt, so gibt die Auswertung der ICC, sowie der CIN3 des Cancer Research UK aus den Jahren 2014 – 2016 zu denken [113]. Das Screening beginnt erst mit dem 25. Lj.. In den anschließenden 5 Jahren findet sich der Gipfel sowohl für die CIN3 als auch für das ICC, während er in Deutschland für das ICC erst um das 53. Lj. erreicht wird. Daher scheint es, bevor die statistisch – epidemiologischen sehr auffälligen Erkenntnisse in UK nicht verstanden werden, nicht sinnvoll die Altersgrenze auch in Deutschland auf 25 Jahre anzuheben.

Zytologie

Derzeit erfolgt das Zervixkarzinomscreening ausschließlich auf Basis der Zytodiagnostik. Da die CIN3 nur im Rahmen der Vorsorge entdeckt werden kann, ist es nicht verwunderlich, dass alle unsere Fälle zytologisch auffällig waren.

Fasst man die zytologischen Gruppen zusammen, welche insbesondere nach dem ab dem 01.01.2020 gültigen Algorithmus eine umgehende kolposkopische Abklärung erforderlich machen (Gruppe IIIp, IIIg, IIID2, IVa-p, IVb-p), so findet sich in unserem Patientengut eine Spezifität von 96%. Dies steht im Einklang mit anderen Untersuchungen welche der Zytologie eine hohe Spezifität zusprechen [47, 119]. Bei der Auswertung der zytologischen Diagnostik fällt auf, dass „lediglich“ 78,0% der CIN3 exakt in die analoge Gruppe IVa - IVb eingeordnet wurden. Dies ist jedoch nur von morphologisch-wissenschaftlicher Bedeutung, da klinisch bereits die Einordnung in andere Gruppen (IIIp, IIIg und IIID2) ausreicht, um eine gefährdete Patientin zu identifizieren. Dem wird auch der neue Abklärungsalgorithmus im organisierten Krebsfrüherkennungsprogramm gerecht [120].

Die Sensitivität der Zytodiagnostik kann durch unsere Zahlen nicht beschrieben werden. Dies ist damit begründet, dass wir uns die Treffsicherheit der Methode nicht prospektiv von der gesunden Frau aus

angesehen haben, sondern vom Endpunkt der histologischen Diagnose einer CIN3. Diesen Nachteil weisen aber auch andere große internationale Analysen auf, welche insbesondere den Ko-Test beschrieben und deren Ergebnisse dennoch die Screeningstrategie u.a. in den USA beeinflusst haben [51].

Von erheblicher klinischer Bedeutung und somit wichtig bei der Aufklärung der Patientin ist die Tatsache, dass auch wenn zytologisch, kolposkopisch und bioptisch eine CIN3 diagnostiziert wurde, bei der abschließenden histologischen Aufarbeitung des Gesamtpräparates ein ICC diagnostiziert werden kann. Aufgrund unserer Daten kann man der Patientin mitteilen, dass sich in ca. 1,7% eine beginnende Stromainvasion finden wird. Allerdings wird nur in Ausnahmefällen eine weitergehende Operation notwendig sein, da bei einem Stadium pT1a1, sofern keine Lymphangiosis vorliegt, bereits eine komplette Sanierung erreicht wurde [121]. In wenigen weiteren Fällen, in unserem Krankengut 1,0%, wird eine weitergehende Operation notwendig, da ein höheres Stadium, hier 3x ein ICC im Stadium pT1b1, vorliegt.

Die Kombination aus Zytologie, Kolposkopie und Biopsie kann somit in hohem Maße, bei uns 99,3% (298/300), eine nicht-invasive Läsion voraussagen. Es verbleibt ein Rest-Risiko von 0,7%, dass sich unter der Oberfläche der CIN3 ein invasives Karzinom verbirgt. Dies unterstreicht die Empfehlungen der S3-Leitlinie wonach eine CIN3 zeitnah, einer Sanierung unterzogen werden soll [56].

Zytologische Überdiagnosen sind selten [122]. In unserem Patientengut wurde 17x die Diagnose einer Gruppe IVb-p gestellt, von denen letztendlich 12x eine CIN3 und nur 5x ein ICC vorlag (2x pT1a1, 3x pT1b1). Dies unterstreicht die untergeordnete klinische Bedeutung der Diagnose IVb-p. Es ist möglich eine beginnende Stromainvasion zytologisch zu vermuten. Die Spezifität ist jedoch, wie oben dargelegt, mäßig. Daher kommt der Gruppe IVb-p auch in Morphologenkreisen nur eine klinisch untergeordnete Bedeutung zu.

Häufigkeit und Spezifität von HR HPV, Bedeutung der Genotypisierung mit den Typen HPV16/18/45

In unserem Patientengut lassen sich bei 99,3% (298/300) aller Frauen mit CIN3 HR HP-Viren mit dem HC2-Test nachweisen. Analoge Zahlen sind aus der Literatur bekannt [123-128]. Dies gilt sowohl für invasive Karzinome, als auch für CIN2 und CIN3 [129]. Im Einzelnen bedeutet dies zunächst, dass die hohe Sensitivität unter Real-Word-Bedingungen in Präventionslaboren genauso erreicht werden kann, wie in Speziallaboratorien oder unter Studienbedingungen. Der Test ist sehr gut reproduzierbar.

In den von uns definierten drei Altersgruppen zeigt sich eine gleichbleibende Verteilung: 100% bei den 21 – 34 Jährigen, 97,9% bei den 35 – 49 Jährigen und 100% bei den Frauen über dem 50. Lj.. Somit finden sich bezüglich der Häufigkeit des Nachweises einer HPV-Infektion in den drei Altersgruppen keine substanziellen Unterschiede. Dies bedeutet, dass bei Vorliegen einer CIN3 unabhängig vom Alter der Patientin in insgesamt 99,3% HP-Viren nachgewiesen werden, welche dem high-risk Spektrum angehören. Weltweit sind HPV16 und 18 auch die häufigsten Viren, die bei unauffälliger Zytologie vorkommen [130]. Ob und wann hieraus eine CIN oder gar ein ICC entstehen, hängt einerseits vom Genotyp, aber auch von der komplexen Interaktion zwischen dem Virustyp und der immunologischen Situation der Patientin ab [131].

Ein völlig anderes Bild zeigt sich bei der Altersverteilung der Frauen mit CIN3 bei denen die hochonkogenen HP-Viren 16/18/45 nachgewiesen werden konnten. Insgesamt finden sie sich in 74,3% aller Fälle. Bei invasiven Karzinomen lässt sich diese Gruppe in ca. 82% nachweisen [34, 71, 97]. Es findet sich somit eine gute Korrelation in der Häufigkeit dieser Genotypen zwischen der Verteilung bei ICC und der CIN3. Dies legt die Vermutung nahe, dass eine enge Interaktion zwischen den drei Genotypen und der Entstehung sowohl der CIN3 als auch eines invasiven Karzinoms, besteht. Letztendlich kann man daraus schließen, dass bei Persistenz einer Infektion mit den HPV-Typen 16/18/45 ein erhöhtes Risiko nicht nur der Entstehung einer CIN3, sondern in gleicher Weise für die Indizierung eines invasiven Karzinoms besteht [132, 133].

Diese These wird gestützt durch die Untersuchungen von Tjalma *et al.* [97]. Sie untersuchte die Zeitspanne zwischen der durchschnittlichen Detektion einer CIN3, sowie eines invasiven plattenepithelialen Karzinoms. Diese Spanne beträgt in ihren Untersuchungen für HPV16 15Jahre, für HPV18 9Jahre und für HPV45 kommt sie auf eine Zeitspanne von lediglich einem Jahr.

Somit unterscheiden sich die Typen HPV16/18/45 deutlich von den Typen 31 und 33, bei denen die Zeitspanne zwischen der Diagnose einer CIN3 und dem Auftreten eines invasiven plattenepithelialen Karzinoms 23 bzw. 20 Jahre beträgt (Tabelle 13). Ähnliche Zusammenhänge werden von dieser Arbeitsgruppe auch bei dem Adenokarzinom der Zervix beschrieben. Hier beträgt das Intervall zwischen dem AIS und dem invasiven Adenokarzinom bei Vorliegen von HPV18 6 Jahre und bei HPV16 13 Jahre [97].

Tabelle 13: Mittlere Dauer zwischen Detektion einer CIN3 bis zur Diagnose eines ICC in Abhängigkeit vom HPV-Status (HPV16/18/45) - Korrelation nach Tjalma *et al.* [97]

HPV-Genotypen	Jahre Plattenepithelkarzinom	Jahre Adenokarzinom
16	15	13
18	9	6
45	1	
31	23	
33	20	
andere	17	

Die Häufigkeit der einzelnen HPV-Genotypen bei invasiven Karzinomen wurde von Wheeler *et al.* untersucht: Es führen HPV16 (53,2%), HPV18 (13,1%) und HPV45 (6,1%). Dies sind in der Summe 72,4% und somit fast identisch mit unseren Ergebnissen bzgl. des Nachweises von HPV16/18/45 bei der CIN3 in 74,3%. Hierbei ist bemerkenswert, dass in dem Datenpool aus den USA bezüglich der CIN3 nach HPV16 andere HPV-Typen (HPV31 12,6% und HPV33 8,0%) führen, bei den invasiven Karzinomen aber wieder HPV16, 18 und 45 die ersten drei Plätze einnehmen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass diese drei Typen insbesondere bei dem Übergang von der CIN3 in ein invasives Karzinom eine besondere Bedeutung zukommt, die sie von anderen Genotypen unterscheidet. Hier kann sogar die Vermutung geäußert werden, dass die durch diese Genotypen induzierten CIN3 in fast allen Fällen in ein invasives Karzinom übergehen.

Patienten mit einem ICC, die positiv auf HPV16 oder 18 getestet wurden, traten in jüngerem Alter auf, als bei anderen karzinogenen HPV-Genotypen. Das Lebensalter bei Diagnosestellung von HPV16- und HPV18-assoziierten Karzinomen lag im Durchschnitt 5 Jahre früher als bei den anderen Genotypen [134]. Dies passt auch gut zu den Angaben von Wentzensen, wonach HPV16-induzierte CIN3 etwa 5 Jahre früher diagnostiziert werden, als diejenigen, welche durch andere Genotypen induziert werden [52].

Der Interaktion zwischen CIN3 und ICC sind sowohl Wheeler als auch Hopenhayn nachgegangen. Beide Autoren bestätigen die Dominanz von HPV16/18/45 bei der Entstehung invasiver Karzinome, wobei insbesondere HPV18 und 45 ein hohes onkogenes Potential zeigen[134, 135]. Wir konnten diese HPV-Genotypen in unserem Krankengut bei der CIN3 in 10-15% häufiger nachweisen, als o.g. Autoren.

Tabelle 14: Vergleich Wheeler *et al.* und Hopenhayn *et al.* [134, 135]

HPV-Genotyp	Wheeler		Hopenhayn	
	CIN3/AIS	ICC	CIN3	ICC
16	56,3 %	53,2 %	64,5 %	66,2 %
31	12,6 %	4,3 %	8,4 %	4,1 %
33	8,0 %	4,0 %	10,9 %	5,3 %
18	5,9 %	13,1 %	2,8 %	10,8 %
58	5,4 %	2,5 %	2,8 %	1,3 %
52	5,3 %	3,0 %	3,5 %	2,0 %
51	4,9 %	1,1 %	1,7 %	0,4 %
45	3,1 %	6,1 %	1,4 %	5,0 %
HPV 16/18/45	65,3 %		68,7 %	

Betrachtet man unsere 3 Altersgruppen (20-34, 35-49 und 50+), so zeigt sich, dass ausgehend von 80,8% bei den jüngeren Frauen, sich diese drei hoch onkogenen Viren bei Frauen nach dem 49. Lj. nur noch in 45,9% nachweisen lassen. Dies entspricht einem Abfall von 34,9% von der Gruppe der Jungen, zu den Frauen im höheren Alter. Baandrup *et al.* ermittelte kongruente Ergebnisse und konnte HPV16 bei jungen Frauen mit CIN3 in 68,1% nachweisen und bei Frauen über dem 50. Lj. in lediglich 38,9%. Dies entspricht einem Abfall von 42,8% [72, 74, 136, 137]. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt auch Castle *et al.* 2011 [108].

Über analoge Beobachtungen berichtet auch Porras *et al.* [73], welcher bei Frauen mit einer CIN3+ einen Abfall von HPV16/18/45 von 83,3% in der Gruppe der 18–26-jährigen auf 45,5% in der Gruppe der Frauen zwischen dem 46.–55. Lj. sah. Bei Frauen jenseits des 56. Lj. konnte HPV16/18/45 sogar nur noch in lediglich 27,3% nachgewiesen werden. Diese Daten zeigen eine große Übereinstimmung mit unseren erhobenen Daten. Diese zeigen jedoch auch, dass mit zunehmendem Alter, die hochonkogenen HPV-Typen weiter abnehmen.

Tabelle 15: HPV 16/18/45 Vergleich mit Porras *et al.*, Baandrup *et al.* und Andersson *et al.* [73, 74, 137]

Genotypen positiv	junge Frauen	mittelalte Frauen	Frauen 50+
eigene Daten HPV16/18/45	80,8%	74,0%	45,9%
Porras <i>et al.</i> [73] HPV16	83,3 %	45,5%	27,3%
Baandrup, Munk <i>et al.</i> [74] HPV16	68,1%	/	38,9%
Andersson, Mints <i>et al.</i> [137] HPV16	73,6%	/	33,3%

Die in Tabelle 14 zusammengestellten Zahlen zeigen, dass in den wenigen Untersuchungen, die sich mit dieser Problematik beschäftigen, das gleiche Phänomen auftritt: Bei den jungen Frauen liegt der Anteil der hochonkogenen Viren deutlich höher, als in der Gruppe der Frauen um und über 50 Jahren. Die im Detail unterschiedlichen prozentualen Anteile erklären sich dadurch, dass nicht immer die drei Genotypen HPV16/18/45 nachgewiesen wurden, sowie aus der Tatsache, dass insbesondere in der Gruppe der älteren Frauen unterschiedliche Altersgrenzen Verwendung finden. Porras *et al.* und Rodriguez *et al.* interpretieren den Abfall des Genotypes HPV16 in höhergradigen Dysplasien (CIN2 und CIN3) damit, dass HPV16 assoziierte CIN bei jungen Frauen eher ausheilen, als bei Älteren. Dies ist sicherlich zum Teil zutreffend, insbesondere bei der CIN2. Da dieser Abfall jedoch in allen Altersklassen bis in die Postmenopause zu beobachten ist, vermuten wir, dass hier ein Screeningeffekt vorliegt. Die Remission der CIN3 kommt in einer durchgescreeenten Bevölkerung kaum zum Tragen, da quasi alle detektierten CIN3, therapiert werden [126, 138].

Die HPV-Typen 16/18/45 führen, verglichen mit den Non-HPV16/18/45-Typen, am Häufigsten zu einer CIN3, welche durch das Screening erkannt und schon frühzeitig behandelt werden. Wie aus unseren Untersuchungen zu ersehen ist, sind sie in nahezu 80% für die Entstehung einer CIN3 verantwortlich. Die Therapie dieser Läsionen findet, wie wir aus unseren epidemiologischen Daten erkennen können, vorwiegend bei jungen und mittelalten Frauen statt und ist bis zum 50. Lj. nahezu abgeschlossen. Dies führt zwangsläufig zu einer Reduktion des prozentualen Anteils der hochonkogenen Viren 16/18/45 in der CIN3.

Eine weitere Reduktion der HPV-Typen 16/18/45 findet vermutlich dadurch statt, dass unerkannte CIN3-Läsionen in invasive Karzinome übergehen. Dies war vor der Implementierung des Screenings der Regelfall. Die Anzahl der ICC wurde durch das Screening auf ca. 25% der Ausgangslast reduziert [16, 19, 21]. Man kann also davon ausgehen, dass der Ablauf einer ungestörten Karzinogenese heute ebenfalls nur noch in 25% der Fälle zum Tragen kommt.

Dies könnte auch erklären, warum ab dem 60. Lj. die altersbezogene Inzidenz des invasiven Karzinoms über fast 2 Dekaden rückläufig ist und eine zweigipflige Kurve entsteht, wie sie in der Altersverteilung der invasiven Karzinome beschrieben ist [116]. Ursächlich hierfür ist unserer Meinung nach, dass die schneller progredienten und somit frühzeitiger zu einem ICC führenden hochonkogenen HPV-Typen 16/18/45, im Gegensatz zu den langsamer progredienten Non-16/18/45-Typen, zu einem großen Teil bereits verbraucht sind und nur noch zu dem oben beschriebenen geringeren Prozentsatz vorhanden sind. Hierdurch entsteht eine Verschiebung zu den Non-16/18/45-Typen mit einer prolongierten Karzinogenese. Somit ist eine Absenkung der Inzidenz zwischen dem 60. und 74. Lj. zu beobachten (Abbildung 7, [16]).

Ein Grund der es den hochonkogenen HPV-Typen ermöglicht sich bei älteren Frauen erneut durchzusetzen, ist wahrscheinlich zum einen die abnehmende Teilnahmerate der berechtigten Frauen an der Krebsvorsorge, zum anderen den Erschwernissen zur Detektion einer CIN3 jenseits des 55. Lj. durch die Atrophisierung des inneren Genitales in der Postmenopause, geschuldet. Wir vermuten, dass dieses multifaktorielle Geschehen die Ursache dafür ist, dass in der altersstandardisierten Erfassung der Inzidenzen nach einem Abfall um das 55. Lj. 10-15 Jahre später, wieder ein kontinuierlicher Anstieg zu beobachten ist [97].

Diese Überlegungen, welche durch die Auswertung unserer Daten zur Epidemiologie und der altersbezogenen Verteilung der hochonkogenen HPV-Typen abgeleitet sind, wurden bislang unseres Wissens nach in dieser Form noch nirgends geäußert oder publiziert. Sie stellen jedoch eine Basis für weitere geplante biostatistische Untersuchungen dar, mit denen diese Hypothese gestützt werden soll.

Wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass die Rate an Neuinfektionen mit zunehmendem Alter sinkt. Rodriguez *et al.* hat eine Gruppe von über 9000 Frauen untersucht und nachgewiesen, dass der Gesamtnutzen einer prophylaktischen Impfung oder eines häufigen HPV-Screenings zur Prävention oder zum Nachweis neuer HPV-Infektionen mit hochonkogenen Typen in älteren Altersgruppen eher gering ist. Auch hier wird beschrieben, dass die Infektionen aus den jungen Jahren einer Frau stammen und bis ins hohe Alter persistieren können [139].

CINtec plus p16/Ki67

Bereits seit mehreren Jahren wird diskutiert, ob die immunhistochemische Darstellung von p16/Ki67, insbesondere durch den von der Firma Roche Diagnostic entwickelten Kit CINtec plus, welcher neben p16 auch Ki67 darstellt, die Zytodiagnostik ersetzen kann [140, 141].

Grundlage dieser Überlegungen ist das Argument, dass durch den hochsensitiven Antikörper eine objektivere und sensitivere Diagnostik möglich wird, als dies bei der subjektiven Interpretation durch den Zytologen möglich ist. In der Tat findet sich auch in unserem Patientengut eine sehr hohe Spezifität für die CIN3 von 95,3%. Diese entsprechen auch Daten, wie sie in der Literatur zu finden sind [142]. So beschreibt Bergeron *et al.* beim Einsatz von CINtec plus bei der Triage von Abstrichen der Gruppe ASC-US zur Detektion höhergradiger intraepithelialer Neoplasien (CIN2+), eine Sensitivität von 98,4% [81]. Ikenberg *et al.* beschrieb in der PALMS-Studie eine Sensitivität von 87,4% und eine Spezifität von 94,8% [80]. Dies korreliert mit den von uns erhobenen Befunden in hohem Maße. Es zeigt, dass der Kit CINtec plus p16/Ki67 unter Real-World-Bedingungen gut reproduzierbar ist und die in großen Studien gefundenen Daten gut nachvollzogen werden können. Es hat sich jedoch die Forderung der Zytologie im Rahmen des Primärscreenings durch die

Immunzytochemie zu ersetzen, bislang nirgends durchsetzen können. Es hängt auch damit zusammen, dass mit der konventionellen Zytologie eine differenzierte, wegweisende Diagnostik möglich ist.

L1

Bei einem Teil der Virushülle, dem auch immunologisch ein besonderer Stellenwert zukommt, handelt es sich um das Kapsidprotein L1. Dieses ist Bestandteil des Impfstoffes, welcher eine manifeste HPV-Infektion verhindern soll. Solange L1 in der Zelle nachweisbar ist, kann das Immunsystem das Virus erkennen und ggf. eliminieren. Diese Tatsache wird durch mehrere Untersuchungen belegt [44, 82, 143, 144].

Bei Vorliegen einer CIN3 kann man auf Grund der Angaben in der Literatur vermuten, dass L1 nicht mehr nachweisbar ist. Dies bestätigt sich in unserem Krankengut, wo 89,2% aller Fälle L1 negativ sind. Bei der altersspezifischen Verteilung weisen diese L1-negativen Fälle keine substantiellen Schwankungen auf.

Als Ursache für den positiven Nachweis von L1 in den verbleibenden 10,8% kommen unseres Erachtens v.a. Mischinfektionen in Betracht, welche auch bei Frauen mit einer CIN3 vorkommen [138, 145-147].

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse der Arbeitsgruppe von Sargent *et al.*, welche in der ARTISTIC-Studie Typ-spezifische Prävalenzdaten in Bezug auf die HPV-Infektionen für 24.510 Frauen (Altersgruppe: 20-64; Durchschnittsalter 40,2 Jahre) untersuchten. Diese Studie wurde im Rahmen der Routine als NHS Cervical Screening-Programm in Greater Manchester durchgeführt. Die am Häufigsten nachgewiesenen HR HPV-Typen waren HPV16, 18, 31, 51 und 52, auf die 60% aller HR HPV-Typen entfielen. Mehrfachinfektionen waren v.a. bei jüngeren Frauen unter dem 30. Lj. üblich, weniger zwischen 30 und 64 Jahren [60].

Andererseits ist bekannt, dass die CIN3 nicht immer in ein ICC übergeht [38]. Ob die L1-positiven CIN3 ein Remissionspotential in sich tragen, wird jedoch auch in Zukunft offenbleiben, da die histologische Diagnose einer CIN3 immer eine Indikation zur zeitnahen operativen Sanierung des Befundes darstellt. Lediglich in der Gruppe der unter 25-Jährigen wird diskutiert, ob jede CIN3 therapiert werden muss oder ob das Screening erst oberhalb dieser Altersgrenze angesetzt werden sollte. Hintergrund dieser Überlegungen ist, dass ICC in dieser Altersgruppe sehr selten auftreten und die Nachteile, insbesondere die erhöhte Frühgeburtlichkeit, gegenüber den Vorteilen des Screenings überwiegen [148, 149].

Frauen unter dem 25. Lj. haben ein Risiko von annähernd 0% an einem ICC zu erkranken. Es muss jedoch bedacht werden, dass dies nicht immer so war, da die Zahl der invasiven Karzinome, seit

Beginn der Einführung der Screeninguntersuchungen, um 58% bei Frauen zwischen dem 20.-24. Lj. und bei Frauen zwischen dem 25.-29. Lj. um ca. 45% gesenkt werden konnte [150]. Derzeit wird auch in anderen Ländern überlegt wie man den jungen Frauen am besten gerecht wird.

So kann nach Einschätzung von Katki *et al.* auch bei der Diagnose einer CIN3 in der Altersgruppe unterhalb des 25. Lj. noch mit der Therapie zugewartet werden [151]. In den Niederlanden ist man bei der Implementierung der neuen Screeningstrategie noch einen Schritt weiter gegangen: dass dort eingeführte primäre HPV-Screening beginnt erst mit dem 30. Lj.. Andererseits findet sich in UK die höchste Inzidenz invasiver Zervixkarzinome zwischen dem 25. und 29. Lj. [113, 152]. Insgesamt beobachtet man international zunehmend eine Zurückhaltung bei der Indikationsstellung zur operativen Therapie insbesondere bei jüngeren Frauen. So wird selbst in den USA zunehmend die Auffassung vertreten, wonach bei Nachweis einer CIN2 bei jungen Frauen, ein konservatives Therapieregime verfolgt werden kann [153]. In Deutschland galt dies in der Vergangenheit auch für Frauen in höheren Altersklassen, wobei ebenfalls Remissionen zu beobachten waren, welche ein zuwartendes Vorgehen rechtfertigen [47].

Kombination von CINtec plus p16/Ki67 und L1

Es ist bekannt, dass bei der Darstellung von CINtec plus p16/Ki67 und L1 sowohl in der Zytologie, als auch in der Histologie mit zunehmender Schwere der CIN der prozentuale Anteil an CINtec plus p16/Ki67 positiven Veränderungen ansteigt und der Nachweis des Kapsidproteins L1 abfällt [154]. Allerdings liegen zu dieser Fragestellung nur wenige Arbeiten mit, zudem niedrigen Fallzahlen, vor. Es zeigt sich jedoch die Tendenz, dass die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv/L1 negativ bei höhergradigen Dysplasien häufig auftritt und eine Abgrenzung zu niedriggradigen Veränderungen zulässt [155].

Daher haben wir unser Krankengut auch unter diesem Aspekt genauer analysiert: In 85,7% der Fälle liegt in unserem Kollektiv bei einer CIN3 die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv/L1 negativ vor. Somit kann diese Konstellation als eine für diese Läsion typische Kombination bezeichnet werden. Die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 positiv zeigt sich lediglich in 10,1%. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Byun *et al.* und Yu *et al.* [156, 157]. Es kann hiermit an einem größeren Kollektiv erstmals nachgewiesen werden, dass die Kombination CINtec plus p16/Ki67 positiv und L1 negativ das Endergebnis zweier, offenbar unabhängiger Parameter, bei Vorliegen einer CIN3 ist. Umgekehrt ist der Nachweis von L1 in einer CIN3 kein Beleg dafür, dass die Veränderung rückläufig sein könnte, da in zahlreichen hochgradigen zervikalen intraepithelialen Neoplasien Mischinfektionen nachgewiesen wurden, die dann für den L1-Nachweis verantwortlich sein können [145-147].

In der Gruppe der Frauen unterhalb des 25. Lj. gibt es Hinweise darauf, dass eine CIN3 in nennenswertem Maße eine Remission aufweisen kann [158]. Ob hierbei dem positiven Nachweis von L1 eine Rolle bei der Entscheidungsfindung zwischen Therapie und Zuwarten zukommt, bedarf jedoch noch einer gezielten Evaluierung.

Da eine CIN3 bislang immer einer definitiven Therapie zugeführt wird, kommt der Bestimmung von L1 zukünftig bei dieser Läsion keine Bedeutung zu. Diese ist jedoch immer dann gegeben, wenn histologisch eine CIN2 diagnostiziert wird, von denen sich bekanntermaßen ein Großteil wieder zurück entwickeln kann [158]. Mehlhorn *et al.* beschreibt den prognostischen Wert eines positiven L1-Nachweises bei der Entscheidungsfindung, ob bei Vorliegen einer mittelschweren Dysplasie zugewartet werden kann [82]. Ein positiver L1-Befund ist hilfreich, wenn die Frage des weiteren Zuwartens oder der zeitnahen Therapie zu klären ist. Diese wichtige Information kann dann auch in die bei diesen Fällen notwendigen Gespräche mit der Patientin einfließen. Es kommt diesem Befund, unter dem Gesichtspunkt des Shared-Decision-Making eine besondere Bedeutung zu. Hierdurch wird die Patientin in die Lage versetzt, die Zusammenhänge besser zu verstehen um dann eine informierte Entscheidung treffen zu können [95].

Ko-Test

Der gemeinsame Bundesausschuss hat 2017 eine neue Screeningstrategie festgelegt, wonach ab dem 35. Lj. ein Ko-Test mit Zytologie und HR HPV-Test eingeführt wird. Das Intervall beträgt 3 Jahre [106]. Es war daher von besonderer Wertigkeit zu sehen, wie diese beiden Parameter in unserem Krankengut interagieren. Bei einer Spezifität der Zytologie von 96,0%, sowie einer Positivität des HPV-Testes von 99,3% zeigt sich in der Kombination eine Spezifität von 100%. Diese liegt damit höher, als die Daten der derzeit wichtigsten Publikation zu dieser Thematik von A. Blatt. Diese hat ihre Daten an einem großen Krankengut mit 256.648 Patientinnen retrospektiv aus den Datenbanken einer amerikanischen Krankenversicherung erhoben. Hier lag die Spezifität für CIN3+ für den HPV-Test alleine bei 94,0% und für den Pap-Test alleine bei 91,3%. Der Ko-Test erreichte eine Spezifität von 98,8% [51]. Allerdings werden in der Gesamtberechnung auch invasive Karzinome miteinbezogen. Rechnet man aus den vorgelegten Zahlen die Sensitivität für HPV, sowie für die Zytologie ausschließlich bei Patientinnen mit CIN3 heraus, so liegen diese bei 95,7% für den HPV-Test, sowie bei 92,6% für die Zytologie. Über das Ergebnis des Ko-Testes in dieser Subgruppe werden keine Angaben gemacht. In der Gesamtschau zeigt sich, dass die Daten dieser weltweit größten Analyse sehr eng mit den von uns erhobenen Zahlen korrelieren. Ebenso unterscheidet sich die Kernaussage in beiden Kohorten, wonach die Kombination von Zytologie und HPV-Test die Sensitivität auch im oberen Grenzbereich nochmals erhöht nicht.

Impfung

Die epidemiologischen Daten zur CIN3 zeigen, dass mit einem deutlichen Erfolg der HPV-Impfung, schon in absehbarer Zeit gerechtfertigt werden kann [87, 89, 159, 160]. Die ersten Mädchen wurden in Deutschland ab dem Jahre 2007 geimpft. Geht man davon aus, dass sie damals im Mittel 12 Jahre alt waren, so kann man für die zu beobachtende Kohorte einen mittleren Geburtsjahrgang von 1995 annehmen. Dies bedeutet, dass diese Mädchen im Jahre 2015 das 20. Lj. erreicht haben und in das Screeningprogramm eingetreten sind. 2020 erreichen sie das 25. Lj. und haben bis 2030 den Gipfel der CIN3 im 35. Lj. überschritten. Betrachtet man die Altersverteilungskurve der CIN3 in der vorliegenden Arbeit, so wird man in den nächsten 10 Jahren den Effekt der HPV-Impfung bis zum 35. Lj. darstellen können. Jenseits des 35. Lj. kann die Auswirkung des Ko-Testes analysiert werden. Ab dem Jahre 2030 werden sich beide Effekte überschneiden. Zwei 2018 erschienene Arbeiten aus Australien in denen allerdings eine Durchimpfung der Bevölkerung von 80% bei den Mädchen, als auch bei den Knaben besteht, kommt zu dem Ergebnis, dass durch Kombination von Impfung und Screening möglich sein wird schon mittelfristig die Inzidenz der ICC deutlich zu senken. Hierbei kommt, auch aus unserer Altersverteilungskurve der CIN3 nachvollziehbar, zunehmend der Impfung eine höhere Bedeutung zu, während die Effektivität des Screenings in den Hintergrund rückt [84, 90, 91, 161, 162]. Ob allerdings die weltweit errechnete Reduktion des ICC in gleicher Weise, auch in den beschriebenen Entwicklungsländern zum Tragen kommt, bleibt abzuwarten [162].

Schlusswort

In der vorliegenden Arbeit wurde die zervikale intraepitheliale Neoplasie Grad 3 (CIN3) unter epidemiologischen, morphologischen, virologischen und molekularbiologischen Gesichtspunkten analysiert und altersspezifisch ausgewertet.

Die Anzahl der untersuchten Patientinnen entspricht einer Screeningpopulation von 175.000 Frauen und ist damit die derzeit größte Studie zur Charakterisierung der CIN3, welche unter Real-World-Bedingungen durchgeführt wurde. Die Anzahl von 300 CIN3 erlaubt einen Vergleich mit großen multizentrischen Studien. Die Schwäche der Studie liegt in der retrospektiven Auswertung der Daten, sowie in der unizentrischen Durchführung. Letzteres ist zugleich aber auch eine der Stärken der Studie, da hierdurch ein einheitliches Procedere in jedem Einzelfall sichergestellt wird.

Es bleibt abzuwarten, in wieweit die neue Strategie des Zervixkarzinomscreenings zu einer veränderten Detektionsrate der CIN3 und des invasiven Karzinoms führen wird. Es zeichnet sich jedoch bereits jetzt ab, dass mit Hilfe der oben beschriebenen Methoden die Zielläsion des Screenings, die CIN3, noch frühzeitiger diagnostiziert werden kann. Dies sollte einen Einfluss, sowohl auf die Inzidenz der CIN3, als auch auf die des invasiven Zervixkarzinoms haben.

6. Literaturverzeichnis

1. WHO. *Cervical cancer*. 2019 Stand: 16.06.2019]; Available from: <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/cervical-cancer/en/>.
2. Bray, F., BSc, MSc, PhD1; Ferlay, J., ME2; Soerjomataram, I., MD, MSc, PhD3; Siegel, R. L., MPH4; Torre, L. A., MSPH5; Jemal, A., PhD, DVM6, *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA CANCER J CLIN, 2018. **68**(6): p. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21492>.
3. Gustafsson, L., et al., *International incidence rates of invasive cervical cancer before cytological screening*. Int J Cancer, 1997. **71**(2): p. 159-65.
4. WHO-GLOBOCAN. *UN Joint Global Programme on Cervical Cancer Prevention and Control*. 2016 Stand: 12.07.2019]; Available from: <https://www.who.int/ncds/un-task-force/un-joint-action-cervical-cancer-leaflet.pdf>.
5. Anttila, A., et al., *Cervical cancer screening policies and coverage in Europe*. Eur J Cancer, 2009. **45**(15): p. 2649-58.
6. Papanicolaou, G.N., *Classes in oncology: George Nicholas Papanicolaou's new cancer diagnosis presented at the Third Race Betterment Conference, Battle Creek, Michigan, January 2-6, 1928, and published in the Proceedings of the Conference*. CA Cancer J Clin, 1973. **23**(3): p. 174-9.
7. Papanicolaou, G.N., *A New Procedure for Staining Vaginal Smears*. Science, 1942. **95**(2469): p. 438-9.
8. Papanicolaou, G.N., *Observations on the origin and specific function of the histiocytes in the female genital tract*. Fertil Steril, 1953. **4**(6): p. 472-8.
9. Matzke, *Bekanntmachung der Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 4. Lebensjahres und über die Früherkennung von Krebserkrankungen*. Beilage zum Bundesanzeiger Nr. 111, 1971.
10. Robert-Koch-Institut. *Gebärmutterhalskrebs (Zervixkarzinom)*. 2014 Stand: 28.06.2019]; Available from: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Gebaermutterhalskrebs/gebaermutterhalskrebs_node.html.
11. Gemeinsamer Bundesausschuss. *Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme*. 2018 Stand: 13.06.2019]; Available from: <https://www.g-ba.de/downloads/62-492-1844/oKFE-RL-2018-11-22-iK-2019-07-01.pdf>.
12. Griesser, H., K. Marquardt, B. Jordan, W. Kühn, K. Neis, H. H. Neumann, R. Bollmann, B. Pöschel, M. Steiner, U. Schenck, *Gynäkologische Zytodiagnostik der Zervix: Münchner Nomenklatur III*. Der Frauenarzt, 2013(11 - NOVEMBER 2013): p. 1042-1048.
13. Solomon, D., et al., *The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology*. JAMA, 2002. **287**(16): p. 2114-9.
14. WHO. *Histopathology of the uterine cervix - digital atlas*. 2019 Stand: 16.06.2019]; Available from: <https://screening.iarc.fr/atlasclassifwho.php>.
15. Sasieni, P., A. Castanon, and J. Cuzick, *Screening and adenocarcinoma of the cervix*. Int J Cancer, 2009. **125**(3): p. 525-9.
16. Robert-Koch-Institut. *Krebs in Deutschland - Gebärmutterhalskrebs*. 2017 Stand: 28.06.2019]; Available from: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2017/kid_2017_c53_gebaermutterhals.pdf.
17. Bulk, S., et al., *Cervical cancer in the Netherlands 1989-1998: Decrease of squamous cell carcinoma in older women, increase of adenocarcinoma in younger women*. Int J Cancer, 2005. **113**(6): p. 1005-9.
18. eurocytology. *Zervixzytologie - 4. Pathogenese des Zervixkarzinoms*. 2016 Stand: 26.06.2019]; Available from: <https://www.eurocytology.eu/de/course/1021>.
19. Nocon, M., Mittendorf, T., Roll, S., Greiner, W., Willich, S. N., Graf von der Schulenburg, J. *Welchen medizinischen und gesundheitsökonomischen Nutzen hat die Kolposkopie als*

- primäres Screening auf das Zervixkarzinom?* 2007; https://portal.dimdi.de/de/hta/hta_berichte/hta198_bericht_de.pdf
20. GEKID. *Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland - Atlas der Krebserkrankungen in Deutschland*. Stand: 24.06.2019]; Available from: <http://www.atlas.gekid.de>.
 21. Bundesministerium für Gesundheit. *Anpassung der Gebärmutterhalskrebs-Früherkennung an die Qualitätsvorgaben der aktuellen Auflage der "Europäischen Leitlinien für die Qualitätssicherung des Zervixkarzinom-Screenings" - (von 2008 und "Supplements" von 2015)*. 2019 Stand: 26.06.2019]; <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/nationaler-krebsplan/was-haben-wir-bisher-erreicht/ziel-2a.html>
 22. Krebsregister_Schleswig-Holstein. *Krebs in Schleswig Holstein Band 6-Inzidenz und Mortalitaet im Jahr 2004*. 2017 Stand: 21.04.2019]; Available from: <http://www.krebsregister-sh.de/berichte/kish2017.pdf>
 23. Marquardt, K., et al., *Persistent carcinoma in cervical cancer screening: non-participation is the most significant cause*. *Acta Cytol*, 2011. **55**(5): p. 433-7.
 24. Castillo, M., et al., *Poor Cervical Cancer Screening Attendance and False Negatives. A Call for Organized Screening*. *PLoS One*, 2016. **11**(8): p. e0161403.
 25. Kirschner, B., et al., *Screening history in women with cervical cancer in a Danish population-based screening program*. *Gynecol Oncol*, 2011. **120**(1): p. 68-72.
 26. Kerek-Bodden H, A.L., Brenner G, Franke A, *Inanspruchnahme der Früherkennung auf Zervixkarzinom in den Jahren 2002–2004*. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag 2010, 2009.
 27. Mund, M., *Früherkennung Zervixkarzinom: Wird mit dem neuen Gesetz alles besser?* *Deutsches Ärzteblatt International*, 2012. **109**(50): p. 2513-4.
 28. Zentralinstitut für die kassenärztliche Versorgung in der Bundesrepublik Deutschland. *Durchführung einer versichertenbezogenen Untersuchung zur Inanspruchnahme der Früherkennung auf Zervixkarzinom in den Jahren 2002, 2003 und 2004 auf der Basis von Abrechnungsdaten*. 2009 Stand: 14.05.2019]; Available from: https://www.zi.de/fileadmin/images/content/PDFs_alle/Diskussionspapier_ZervixCA.pdf.
 29. Boshart, M., et al., *A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer*. *EMBO J*, 1984. **3**(5): p. 1151-7.
 30. Gissmann, L., et al., *Presence of human papillomavirus in genital tumors*. *J Invest Dermatol*, 1984. **83**(1 Suppl): p. 26s-28s.
 31. zur Hausen, H., *Papillomaviruses in human cancer*. *Cancer*, 1987. **59**(10): p. 1692-6.
 32. zur Hausen, H., et al., *Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus*. *Int J Cancer*, 1974. **13**(5): p. 650-6.
 33. zur Hausen, H., *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. *Nat Rev Cancer*, 2002. **2**(5): p. 342-50.
 34. de Sanjose, S., et al., *Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study*. *Lancet Oncol*, 2010. **11**(11): p. 1048-56.
 35. Huijsmans, C.J., et al., *HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows*. *BMC Cancer*, 2016. **16**(1): p. 922.
 36. Bosch, F.X., et al., *Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia*. *Vaccine*, 2008. **26 Suppl 10**: p. K1-16.
 37. Schiffman, M., et al., *Human papillomavirus and cervical cancer*. *Lancet*, 2007. **370**(9590): p. 890-907.
 38. Horn, L.C. and K. Klostermann, *[Precancerous lesions of the uterine cervix: morphology and molecular pathology]*. *Pathologe*, 2011. **32 Suppl 2**: p. 242-54.
 39. Papoutsis, D., et al., *Does CIN2 Have the Same Aggressive Potential As CIN3? A Secondary Analysis of High-Grade Cytology Recurrence in Women Treated with Cold-Coagulation Cervical Treatment*. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2017. **77**(3): p. 284-289.
 40. McCredie, M.R., et al., *Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study*. *Lancet Oncol*, 2008. **9**(5): p. 425-34.

41. Khan, M.J., et al., *The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice.* J Natl Cancer Inst, 2005. **97**(14): p. 1072-9.
42. Jaisamrarn, U., et al., *Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study.* PLoS One, 2013. **8**(11): p. e79260.
43. Tainio, K., et al., *Clinical course of untreated cervical intraepithelial neoplasia grade 2 under active surveillance: systematic review and meta-analysis.* BMJ, 2018. **360**: p. k499.
44. Choi, Y.S., et al., *Human papillomavirus L1 capsid protein and human papillomavirus type 16 as prognostic markers in cervical intraepithelial neoplasia I.* Int J Gynecol Cancer, 2010. **20**(2): p. 288-93.
45. Siebert, U., et al., *The German cervical cancer screening model: development and validation of a decision-analytic model for cervical cancer screening in Germany.* Eur J Public Health, 2006. **16**(2): p. 185-92.
46. Insinga, R.P., E.J. Dasbach, and E.H. Elbasha, *Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model.* BMC Infect Dis, 2009. **9**: p. 119.
47. Marquardt, K., P. Ziemke, and K. Neumann, *Three-Tiered versus Two-Tiered Classification of Squamous Dysplasia in Cervical Cytology: Results of a Follow-Up Study.* Acta Cytol, 2019. **63**(1): p. 44-49.
48. Cortes-Alaguero, C., et al., *Do clinical data and human papilloma virus genotype influence spontaneous regression in grade I cervical intraepithelial neoplasia?* J Turk Ger Gynecol Assoc, 2017. **18**(1): p. 1-8.
49. Moscicki, A.B., et al., *Rate of and risks for regression of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescents and young women.* Obstet Gynecol, 2010. **116**(6): p. 1373-80.
50. Nasiell, K., M. Nasiell, and V. Vaclavinkova, *Behavior of moderate cervical dysplasia during long-term follow-up.* Obstet Gynecol, 1983. **61**(5): p. 609-14.
51. Blatt, A.J., et al., *Comparison of cervical cancer screening results among 256,648 women in multiple clinical practices.* Cancer Cytopathol, 2015. **123**(5): p. 282-8.
52. Wentzensen, N., et al., *Heterogeneity of high-grade cervical intraepithelial neoplasia related to HPV16: implications for natural history and management.* Int J Cancer, 2013. **132**(1): p. 148-54.
53. Gravitt, P.E., *The known unknowns of HPV natural history.* J Clin Invest, 2011. **121**(12): p. 4593-9.
54. Meijer, C.J., et al., *Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older.* Int J Cancer, 2009. **124**(3): p. 516-20.
55. Iftner, T. *Anforderungen HPV-Test.* 2017; Available from: <http://www.g-f-v.org/node/696>
56. Leitlinienprogramm_Onkologie_der_Arbeitsgemeinschaft_der_Wissenschaftlichen_und_Medizinischen_Fachgesellschaften_Deutschen_Krebsgesellschaft_und_Deutschen_Krebshilfe. *S3-Leitlinie Prävention des Zervixkarzinoms.* 2017 Stand: 21.05.2019]; Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-0270LI_Praevention_Zervixkarzinom_2018-01.pdf.
57. Rijkaart, D.C., et al., *Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial.* Lancet Oncol, 2012. **13**(1): p. 78-88.
58. Ronco, G., et al., *Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials.* Lancet, 2014. **383**(9916): p. 524-32.
59. Bulkmand, N.W., et al., *POBASCAM, a population-based randomized controlled trial for implementation of high-risk HPV testing in cervical screening: design, methods and baseline data of 44,102 women.* Int J Cancer, 2004. **110**(1): p. 94-101.
60. Sargent, A., et al., *Prevalence of type-specific HPV infection by age and grade of cervical cytology: data from the ARTISTIC trial.* Br J Cancer, 2008. **98**(10): p. 1704-9.
61. Ronco, G., et al., *Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial.* Lancet Oncol, 2010. **11**(3): p. 249-57.

62. Wahlstrom, C., et al., *Population-based study of screening test performance indices of three human papillomavirus DNA tests*. J Med Virol, 2007. **79**(8): p. 1169-75.
63. Kitchener, H.C., et al., *HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomised controlled trial*. Lancet Oncol, 2009. **10**(7): p. 672-82.
64. Tao, X., et al., *History of high-risk HPV and Pap test results in a large cohort of patients with invasive cervical carcinoma: experience from the largest women's hospital in China*. Cancer Cytopathol, 2015. **123**(7): p. 421-7.
65. Kühn, W., Marquard, K., *Kein Zervixkarzinom ohne HPV“ Ist das Dogma noch haltbar?* Frauenarzt Nr. 57, 2016.
66. Zheng, B., et al., *Prior high-risk HPV testing and Pap test results for 427 invasive cervical cancers in China's largest CAP-certified laboratory*. Cancer Cytopathol, 2015. **123**(7): p. 428-34.
67. Valentine, K., et al., *Cytology at the Time of HPV: Some Things to Think about when Discussing HPV*. Acta Cytol, 2016. **60**(6): p. 527-533.
68. Iftner, T., et al., *Head-to-Head Comparison of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany*. J Clin Microbiol, 2015. **53**(8): p. 2509-16.
69. Naucler, P., et al., *Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer*. N Engl J Med, 2007. **357**(16): p. 1589-97.
70. Katki, H.A., et al., *Five-year risk of recurrence after treatment of CIN 2, CIN 3, or AIS: performance of HPV and Pap cotesting in posttreatment management*. J Low Genit Tract Dis, 2013. **17**(5 Suppl 1): p. S78-84.
71. de Sanjose, S., et al., *Age-specific occurrence of HPV16- and HPV18-related cervical cancer*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013. **22**(7): p. 1313-8.
72. Bonde, J., et al., *HPV prevalence and genotype distribution in a population-based split-sample study of well-screened women using CLART HPV2 human papillomavirus genotype microarray system*. BMC Infect Dis, 2014. **14**: p. 413.
73. Porras, C., et al., *Human papillomavirus types by age in cervical cancer precursors: predominance of human papillomavirus 16 in young women*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009. **18**(3): p. 863-5.
74. Baandrup, L., et al., *HPV16 is associated with younger age in women with cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and 3*. Gynecol Oncol, 2012. **124**(2): p. 281-5.
75. Silver, M.I., et al., *Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia 2 or Worse by Cytology, Human Papillomavirus 16/18, and Colposcopy Impression: A Systematic Review and Meta-analysis*. Obstet Gynecol, 2018.
76. Erasmus_MC_Department_of_Public_Health. *Nationwide monitoring of the National Cervical Cancer Screening Programme*. 2017 Stand: 17.05.2019]; Available from: <https://www.rivm.nl/sites/default/files/2018-12/LEBAmonitor2017-Engels-def181128%282%29.pdf>.
77. Australian_Government_-_Department_of_Health. *National Cervical Screening Program*. 2017 [cited Stand: 26.06.2019; Available from: <http://www.cancerscreening.gov.au/internet/screening/publishing.nsf/Content/cervical-screening-1>.
78. von Knebel Doeberitz, M., et al., *Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16(INK4a) to highlight transforming HPV infections*. Expert Rev Proteomics, 2012. **9**(2): p. 149-63.
79. Linxweiler, M., et al., *Combination of p16(INK4a) /Ki67 immunocytology and HPV polymerase chain reaction for the noninvasive analysis of HPV involvement in head and neck cancer*. Cancer Cytopathol, 2015. **123**(4): p. 219-29.
80. Ikenberg, H., et al., *Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study*. J Natl Cancer Inst, 2013. **105**(20): p. 1550-7.
81. Bergeron, C., et al., *Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results*. Cancer Cytopathol, 2015. **123**(6): p. 373-81.

82. Mehlhorn, G., et al., *HPV L1 detection discriminates cervical precancer from transient HPV infection: a prospective international multicenter study*. *Mod Pathol*, 2013. **26**(7): p. 967-74.
83. Mehlhorn, G., et al., *HPV16-L1-specific antibody response is associated with clinical remission of high-risk HPV-positive early dysplastic lesions*. *Anticancer Res*, 2014. **34**(9): p. 5127-32.
84. Chow, E.P.F., et al., *Quadrivalent vaccine-targeted human papillomavirus genotypes in heterosexual men after the Australian female human papillomavirus vaccination programme: a retrospective observational study*. *Lancet Infect Dis*, 2017. **17**(1): p. 68-77.
85. Robert-Koch-Institut. *Epidemiologisches Bulletin - Mitteilung der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut: Impfung gegen humane Papillomaviren (HPV) für Mädchen von 12 bis 17 Jahren – Empfehlung und Begründung*. 2007 Stand: 21.05.2019]; Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/Ausgabenlinks/12_07.pdf.
86. Robert-Koch-Institut. *HPV-Impfempfehlung für Jungen veröffentlicht - Pressemitteilung des Robert Koch-Instituts*. 2018 Stand: 28.06.2019]; Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2018/07_2018.html.
87. WHO. *Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018*. 2018 Stand: 16.06.2019]; Available from: <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>.
88. Arbyn, M., et al., *Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018. **5**: p. CD009069.
89. Arbyn, M. and L. Xu, *Efficacy and safety of prophylactic HPV vaccines. A Cochrane review of randomized trials*. *Expert Rev Vaccines*, 2018. **17**(12): p. 1085-1091.
90. Hall, M.T., et al., *The projected timeframe until cervical cancer elimination in Australia: a modelling study*. *Lancet Public Health*, 2019. **4**(1): p. e19-e27.
91. Hall, M.T., et al., *Projected future impact of HPV vaccination and primary HPV screening on cervical cancer rates from 2017-2035: Example from Australia*. *PLoS One*, 2018. **13**(2): p. e0185332.
92. Wright, T.C., Jr., et al., *The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results*. *Am J Obstet Gynecol*, 2012. **206**(1): p. 46.e1-46.e11.
93. Castle, P.E., et al., *Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study*. *Lancet Oncol*, 2011. **12**(9): p. 880-90.
94. Wright, T.C., Jr., et al., *Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial*. *Gynecol Oncol*, 2017. **144**(1): p. 51-56.
95. Langer, D.A. and A. Jensen-Doss, *Shared Decision-Making in Youth Mental Health Care: Using the Evidence to Plan Treatments Collaboratively*. *J Clin Child Adolesc Psychol*, 2016: p. 1-11.
96. Kassenärztliche_Bundesvereinigung. *Vereinbarung von Qualitätssicherungsmaßnahmen nach § 135 Abs. 2 SGB V zur zytologischen Untersuchung von Abstrichen der Cervix uteri*. 2014 Stand: 14.06.2019]; Available from: https://www.kbv.de/media/sp/Zervix_Zytologie.pdf.
97. Tjalma, W.A., et al., *Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe*. *Int J Cancer*, 2013. **132**(4): p. 854-67.
98. Cytoimmun_online. Stand: 08.06.2019]; Available from: <https://www.cytoimmun.de/index.php/de/produkte/cytoactiv-test/technische-informationen>.
99. Lax, S.F., L.C. Horn, and T. Loning, *[Categorization of uterine cervix tumors : What's new in the 2014 WHO classification]*. *Pathologe*, 2016. **37**(6): p. 573-584.
100. Martin-Hirsch, P.P., et al., *Surgery for cervical intraepithelial neoplasia*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013(12): p. CD001318.
101. Leinonen, M., et al., *Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting*. *J Natl Cancer Inst*, 2009. **101**(23): p. 1612-23.
102. Leinonen, M.K., et al., *Type- and age-specific distribution of human papillomavirus in women attending cervical cancer screening in Finland*. *Br J Cancer*, 2013. **109**(11): p. 2941-50.

103. Massad, L.S., et al., *2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors*. Obstet Gynecol, 2013. **121**(4): p. 829-46.
104. Schiffman, M. and D. Solomon, *Clinical practice. Cervical-cancer screening with human papillomavirus and cytologic cotesting*. N Engl J Med, 2013. **369**(24): p. 2324-31.
105. Bundesministerium für Gesundheit. *Nationaler Krebsplan - Handlungsfelder, Ziele, Umsetzungsempfehlungen und Ergebnisse*. 2017 Stand: 26.06.2019]; Available from: https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/5_Publikationen/Praevention/Broschueren/Broschuere_Nationaler_Krebsplan.pdf.
106. Gemeinsamer_Bundesausschuss. *Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Krebsfrüherkennungs-Richtlinie und eine Änderung der Richtlinie für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme: Programm zur Früherkennung von Zervixkarzinomen*. 2018 Stand: 13.06.2019]; Available from: https://www.g-ba.de/downloads/39-261-3597/2018-11-22_oKFE-RL_Zervixkarzinom_BAnz.pdf.
107. Castle, P.E., et al., *Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010. **19**(7): p. 1675-81.
108. Castle, P.E., et al., *Human papillomavirus (HPV) genotypes in women with cervical precancer and cancer at Kaiser Permanente Northern California*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2011. **20**(5): p. 946-53.
109. Jensen, K.E., et al., *Risk for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse in relation to smoking among women with persistent human papillomavirus infection*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012. **21**(11): p. 1949-55.
110. Roura, E., et al., *Smoking as a major risk factor for cervical cancer and pre-cancer: Results from the EPIC cohort*. Int J Cancer, 2014. **135**(2): p. 453-66.
111. Barken, S.S., et al., *Frequency of cervical intraepithelial neoplasia treatment in a well-screened population*. Int J Cancer, 2012. **130**(10): p. 2438-44.
112. Orumaa, M., et al., *Recent increase in incidence of cervical precancerous lesions in Norway: Nationwide study from 1992 to 2016*. Int J Cancer, 2019.
113. CANCER_RESEARCH_UK. *Cervical cancer incidence statistics*. 2017 Stand: 13.06.2019]; Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/cervical-cancer/incidence - heading-One>.
114. Skaznik-Wikiel, M.E., et al., *Heavy cervical cancer burden in elderly women: how can we improve the situation?* Acta Cytol, 2012. **56**(4): p. 388-93.
115. Sung, H.Y., et al., *Papanicolaou smear history and diagnosis of invasive cervical carcinoma among members of a large prepaid health plan*. Cancer, 2000. **88**(10): p. 2283-9.
116. Spayne, J., et al., *Invasive cervical cancer: a failure of screening*. Eur J Public Health, 2008. **18**(2): p. 162-5.
117. Rositch, A.F., M.I. Silver, and P.E. Gravitt, *Cervical cancer screening in older women: new evidence and knowledge gaps*. PLoS Med, 2014. **11**(1): p. e1001586.
118. Grainge, M.J., et al., *Cervical human papillomavirus screening among older women*. Emerg Infect Dis, 2005. **11**(11): p. 1680-5.
119. Schenck, U. and L. von Karsa, *Cervical cancer screening in Germany*. Eur J Cancer, 2000. **36**(17): p. 2221-6.
120. Gemeinsamer_Bundesausschuss. *Richtlinie für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme und Krebsfrüherkennungs-Richtlinie: Programm zur Früherkennung von Zervixkarzinomen*. 2018 Stand: 13.06.2019]; Available from: <https://www.g-ba.de/beschluesse/3597/>.
121. Leitlinienprogramm_Onkologie_der_Arbeitsgemeinschaft_der_Wissenschaftlichen_ and Medizinischen_Fachgesellschaften_Deutschen_Krebsgesellschaft_und_Deutschen_Krebshilfe . *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientin mit Zervixkarzinom*. 2014 Stand: 21.05.2019]; Available from: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-033OL.html>.
122. Malila, N., et al., *The HPV test has similar sensitivity but more overdiagnosis than the Pap test--a randomised health services study on cervical cancer screening in Finland*. Int J Cancer, 2013. **132**(9): p. 2141-7.

123. Bottari, F., et al., *Transition from Hybrid Capture 2 to Cobas 4800 in Hpv detection: sensitivity and specificity for Cin2+ in two time periods*. *Infect Dis (Lond)*, 2018. **50**(7): p. 554-559.
124. Sasagawa, T., et al., *Comparison of the digene hybrid capture 2 and Roche cobas 4800 HPV tests for detection of CIN2+ in a referral population in Japan*. *J Med Virol*, 2018. **90**(5): p. 972-980.
125. Cook, D.A., et al., *Comparison of the Roche cobas(R) 4800 and Digene Hybrid Capture(R) 2 HPV tests for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial*. *BMC Cancer*, 2015. **15**: p. 968.
126. Motamedi, M., et al., *CIN III lesions and regression: retrospective analysis of 635 cases*. *BMC Infect Dis*, 2015. **15**: p. 541.
127. Pretet, J.L., et al., *Human papillomavirus genotype distribution in high grade cervical lesions (CIN 2/3) in France: EDITH study*. *Int J Cancer*, 2008. **122**(2): p. 424-7.
128. Rebolj, M., et al., *Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above*. *PLoS One*, 2016. **11**(1): p. e0147326.
129. Sanchez-Lander, J., et al., *Human papillomavirus in invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia 2 and 3 in Venezuela: a cross-sectional study*. *Cancer Epidemiol*, 2012. **36**(5): p. e284-7.
130. Bruni, L., et al., *Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings*. *J Infect Dis*, 2010. **202**(12): p. 1789-99.
131. Smola, S., *Immune deviation and cervical carcinogenesis*. *Papillomavirus Res*, 2019. **7**: p. 164-167.
132. Kjaer, S.K., et al., *Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence*. *J Natl Cancer Inst*, 2010. **102**(19): p. 1478-88.
133. Thomsen, L.T., et al., *Long-term risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse according to high-risk human papillomavirus genotype and semi-quantitative viral load among 33,288 women with normal cervical cytology*. *Int J Cancer*, 2015. **137**(1): p. 193-203.
134. Wheeler, C.M., et al., *Human papillomavirus genotype distributions: implications for vaccination and cancer screening in the United States*. *J Natl Cancer Inst*, 2009. **101**(7): p. 475-87.
135. Hopenhayn, C., et al., *Prevalence of human papillomavirus types in invasive cervical cancers from 7 US cancer registries before vaccine introduction*. *J Low Genit Tract Dis*, 2014. **18**(2): p. 182-9.
136. Hammer, A., et al., *HPV genotype distribution in older Danish women undergoing surgery due to cervical cancer*. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2015. **94**(11): p. 1262-8.
137. Andersson, S., et al., *Uneven distribution of human papillomavirus 16 in cervical carcinoma and squamous cell carcinoma in older females: A retrospective database study*. *Oncol Lett*, 2014. **8**(4): p. 1528-1532.
138. Insinga, R.P., et al., *Progression and regression of incident cervical HPV 6, 11, 16 and 18 infections in young women*. *Infect Agent Cancer*, 2007. **2**: p. 15.
139. Rodriguez, A.C., et al., *Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection*. *J Natl Cancer Inst*, 2010. **102**(5): p. 315-24.
140. Wentzensen, N., et al., *Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program*. *JAMA Intern Med*, 2019.
141. Peeters, E., et al., *Meta-analysis of the accuracy of p16 or p16/Ki-67 immunocytochemistry versus HPV testing for the detection of CIN2+/CIN3+ in triage of women with minor abnormal cytology*. *Cancer Cytopathol*, 2019. **127**(3): p. 169-180.
142. Wentzensen, N., et al., *Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population*. *Clin Cancer Res*, 2012. **18**(15): p. 4154-62.
143. Griesser, H., et al., *Correlation of immunochemical detection of HPV L1 capsid protein in pap smears with regression of high-risk HPV positive mild/moderate dysplasia*. *Anal Quant Cytol Histol*, 2004. **26**(5): p. 241-5.

144. Griesser, H., et al., *HPV vaccine protein L1 predicts disease outcome of high-risk HPV+ early squamous dysplastic lesions*. *Am J Clin Pathol*, 2009. **132**(6): p. 840-5.
145. Wang, X., et al., *Prevalence and Genotype Distribution of Human Papillomavirus in Invasive Cervical Cancer, Cervical Intraepithelial Neoplasia, and Asymptomatic Women in Southeast China*. *Biomed Res Int*, 2018. **2018**: p. 2897937.
146. Kjaer, S.K., et al., *Population-based prevalence, type- and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark*. *Int J Cancer*, 2008. **123**(8): p. 1864-70.
147. Wang, Y., et al., *Distribution and role of high-risk human papillomavirus genotypes in women with cervical intraepithelial neoplasia: A retrospective analysis from Wenzhou, southeast China*. *Cancer Med*, 2018.
148. Kyrgiou, M., et al., *Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis*. *Lancet*, 2006. **367**(9509): p. 489-98.
149. Bruinsma, F.J. and M.A. Quinn, *The risk of preterm birth following treatment for precancerous changes in the cervix: a systematic review and meta-analysis*. *BJOG*, 2011. **118**(9): p. 1031-41.
150. Rieck, G.C., et al., *Cervical screening in 20-24-year olds*. *J Med Screen*, 2006. **13**(2): p. 64-71; discussion 62-3.
151. Katki, H.A., et al., *Five-year risk of CIN 3+ to guide the management of women aged 21 to 24 years*. *J Low Genit Tract Dis*, 2013. **17**(5 Suppl 1): p. S64-8.
152. Sasieni, P. and A. Castanon, *Dramatic increase in cervical cancer registrations in young women in 2009 in England unlikely to be due to the new policy not to screen women aged 20-24*. *J Med Screen*, 2012. **19**(3): p. 127-32.
153. Vale, D.B., M.C. Westin, and L.C. Zeferino, *High-grade squamous intraepithelial lesion in women aged <30 years has a prevalence pattern resembling low-grade squamous intraepithelial lesion*. *Cancer Cytopathol*, 2013. **121**(10): p. 576-81.
154. Lee, S.J., et al., *Clinicopathological implications of human papilloma virus (HPV) L1 capsid protein immunoreactivity in HPV16-positive cervical cytology*. *Int J Med Sci*, 2014. **11**(1): p. 80-6.
155. Alshenawy, H.A., *Evaluation of p16, human papillomavirus capsid protein L1 and Ki-67 in cervical intraepithelial lesions: potential utility in diagnosis and prognosis*. *Pathol Res Pract*, 2014. **210**(12): p. 916-21.
156. Byun, S.W., et al., *Immunostaining of p16(INK4a)/Ki-67 and L1 capsid protein on liquid-based cytology specimens obtained from ASC-H and LSIL-H cases*. *Int J Med Sci*, 2013. **10**(12): p. 1602-7.
157. Yu, L., et al., *Diagnostic value of p16INK4A, Ki-67, and human papillomavirus L1 capsid protein immunochemical staining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens*. *Cancer Cytopathol*, 2010. **118**(1): p. 47-55.
158. Bekos, C., et al., *Influence of age on histologic outcome of cervical intraepithelial neoplasia during observational management: results from large cohort, systematic review, meta-analysis*. *Sci Rep*, 2018. **8**(1): p. 6383.
159. Alemany, L., et al., *Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in Spain. Implications for prevention*. *Gynecol Oncol*, 2012. **124**(3): p. 512-7.
160. Anderson, L.A., et al., *HPV prevalence and type-distribution in cervical cancer and premalignant lesions of the cervix: A population-based study from Northern Ireland*. *J Med Virol*, 2016. **88**(7): p. 1262-70.
161. Hall, M.T., et al., *The combined impact of implementing HPV immunisation and primary HPV screening in New Zealand: Transitional and long-term benefits, costs and resource utilisation implications*. *Gynecol Oncol*, 2019. **152**(3): p. 472-479.
162. Simms, K.T., et al., *Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020-99: a modelling study*. *Lancet Oncol*, 2019. **20**(3): p. 394-407.

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz besonderen bei nachstehenden Personen bedanken, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift nicht in dieser Form zustande gekommen wäre:

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. Juhasz-Böss, meinem Doktorvater, für die Betreuung dieser Arbeit, der freundlichen Hilfe und Unterstützung, die mir einen kritischen Zugang zu dieser Thematik eröffnete.

Zudem danke ich Prof Dr. K. J. Neis für die Bereitstellung der Rohdaten, ebenso für die Unterstützung zum Verständnis der komplexen Zusammenhänge des Zervixkarzinomscreenings, insbesondere im Vorfeld der Arbeit.

Ich danke Herrn Dr. B. Holleczeck und Frau C. Stegmaier für die Überlassung der Daten aus dem Saarländischen Krebsregisters, insbesondere die Sonderauswertung zur Inzidenz der CIN3 und der invasiven Zervixkarzinome.

Ich danke Herrn Dr. Felix Neis für die kritischen Auseinandersetzungen und Diskussionen mit dem Themenkomplex, sowie für die Durchsicht meiner Arbeit.

Zudem danke ich meiner Mutter vor allem für ihren moralischer Beistand und menschlichen Halt. Das hat mir Kraft und Mut zur Anfertigung und Vollendung meiner Dissertation gegeben.

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern.

Geplante Publikationen

Die Daten der vorliegenden Arbeit werden aktuell zu Publikationen verarbeitet. Geplant sind folgende Originalarbeiten unter meiner Co-Autorenschaft:

1. Bedeutung der altersspezifischen Inzidenz der CIN3 für das Monitoring der neuen Screeningstrategie.
2. Relevanz der altersspezifischen Prävalenz der HPV-Genotypen 16, 18 und 45 für die Karzinogenese