

**Diplomarbeit**

**Vulväre intraepitheliale Neoplasie**  
**Eine retrospektive Studie über Therapie und Klinisches**  
**Follow-Up**

eingereicht von

**Maria Lerchl**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr.<sup>in</sup> med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe**

Klinische Abteilung für Gynäkologie

unter der Anleitung von

**Assoz. Prof.<sup>in</sup> Priv.-Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Gerda Trutnovsky**

**Ass.-Ärztin Dr.<sup>in</sup> Taja Bracic**

Graz, am 08.06.2023

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 08.06.2023

Maria Lerchl eh.

## Danksagungen

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Menschen bedanken, die mich auf meinem Weg zur Erstellung meiner Diplomarbeit unterstützt und begleitet haben.

Zunächst möchte ich mich bei meinen Eltern Sandra und Norbert und Großeltern Maria und Ernst, Helga und Emil und Traudi bedanken, die mich mein ganzes Leben lang unterstützt und ermutigt haben. Ohne ihre Liebe, ihre Geduld und ihre Unterstützung wäre ich nicht hier, wo ich heute bin. Ihr habt in mir immer Potential gesehen, auch wenn ich es selbst nicht sehen konnte.

Ebenso möchte ich meinen Schwestern Theresa, Lena und Emma von Herzen danken. Ihr seid nicht nur meine Schwestern, sondern auch meine engsten Vertrauten und treuesten Unterstützerinnen. In guten wie in schlechten Zeiten habt ihr immer an meiner Seite gestanden und mich ermutigt, meine Träume zu verfolgen und meine Ziele zu erreichen.

Ein weiterer besonderer Dank geht an meine Freunde und Freundinnen und Studienkollegen und Studienkolleginnen, die mich immer wieder aufgemuntert und mir gezeigt haben, dass es sich lohnt, hart zu arbeiten und an seinen Träumen festzuhalten. Ihr habt mir in schweren Zeiten Mut gemacht und meine Freude in guten Zeiten geteilt.

Ein ganz besonderer Dank geht auch an meinen Partner Philip, der immer an meiner Seite war und mich immer unterstützt hat, egal wie stressig oder herausfordernd es war. Du bist der Grund, warum ich jeden Tag mit einem Lächeln in den Tag starte und die letzten 7 Jahre die Zeit meines Lebens waren.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin Assoz. Prof.<sup>in</sup> Priv.-Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Gerda Trutnovsky bedanken, die mich durch ihre fachliche Kompetenz, ihre Geduld und ihre Unterstützung in meiner Arbeit bestärkt und gefördert hat. Ohne ihre Hilfe und ihr Engagement wäre meine Diplomarbeit nicht möglich gewesen.

# Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung .....	i
Danksagungen .....	ii
Inhaltsverzeichnis .....	iii
Abkürzungen und deren Erklärung .....	iv
Abbildungsverzeichnis .....	vi
Tabellenverzeichnis .....	vii
Zusammenfassung .....	viii
Abstract .....	x
1 Einleitung .....	1
1.1 Das äußere weibliche Genitale - Vulva (Pudendum) .....	1
1.1.1 Anatomie .....	1
1.2 Die Vulväre intraepitheliale Neoplasie .....	3
1.2.1 Klassifizierung .....	4
1.2.2 Epidemiologie und Ätiologie .....	7
1.2.3 Prävention .....	8
1.2.4 Klinik .....	9
1.2.5 Therapie .....	9
2 Material und Methoden .....	15
2.1 Studienziele .....	15
2.2 Ein- und Ausschlusskriterien .....	15
2.3 Studiendesign und Untersuchungszeitraum .....	15
2.4 Retrospektive Analyse .....	16
2.4.1 Ethikvotum .....	16
2.4.2 Datenerhebung .....	16
2.4.3 Patientinnenkollektiv .....	17
2.4.4 Datenschutz .....	18
2.4.5 Datenauswertung .....	18
3 Ergebnisse – Resultate mit graphischen Darstellungen .....	20
3.1 Ergebnisse der retrospektiven Analyse .....	20
4 Diskussion .....	27
4.1 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse .....	27
4.2 Stärken und Schwächen der Studie .....	29
4.3 Conclusio .....	30
Literaturverzeichnis .....	xii

## Abkürzungen und deren Erklärung

bzw.	beziehungsweise
cm	Centimeter
DEVIL	differenzierte exophytische VIN-Läsion
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d-VIN	differenzierte Vulväre intraepitheliale Neoplasie
HPV	Humanes Papilloma Virus
H-SIL	High-grade Squamous Intraepithelial Lesion
i.d.R.	in der Regel
LKH	Landeskrankenhaus
L-SIL	Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion
M.	Musculus
mglw.	möglicherweise
MGMT	O <sup>6</sup> -Methylguanine-DNA Methyltransferase
mm	Millimeter
Mm.	Musculi
p16	Protein 16
p53	Tumor Protein p53
PAP	Papanicolaou
PTEN	Phosphatase und Tensin homolog
QoL	Quality of Life
R0	R0-Resektion, Entfernung des Tumors im Gesunden
RASSF2A	Ras association domain family 2A
SCC	Squamous Cell Carcinoma
SIL	Squamous Intraepithelial Lesion
TH1	Typ-1-T-Helferzelle
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
TSP-1	Thrombospondin 1
Univ.	Universitäts
VAAD	vulväre Akanthose mit abnormer Differenzierung
vHSIL	vulväre high-grade Squamous Intraepithelial Lesion
VIN	Vulväre intraepitheliale Neoplasie

WHO Weltgesundheitsorganisation  
z.B. zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Äußere Geschlechtsteile einer Jungfrau. Hymen intactus (3).....	3
Abbildung 2: Klinikopathologische Charakteristika der WHO-Klassifikation 2020 der vulvären Präkanzerosen (8) .....	5
Abbildung 3: Therapiemethode HPV-assoziierte VIN.....	23
Abbildung 4: Therapiemethode d-VIN .....	23
Abbildung 5: Erhebung Rezidivvorkommen .....	24
Abbildung 6: Rezidivanzahl .....	24

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der VIN nach WHO (5).....	4
Tabelle 2: Klinikopathologische Charakteristika von Plattenepithelkarzinomen der Vulva (8).....	6
Tabelle 3: Charakteristika der Studienpopulation .....	21
Tabelle 4: Rezidivverhalten der Studienpopulation .....	25

## Zusammenfassung

In der folgenden Diplomarbeit werden die Anzahl der Rezidive bei Patientinnen mit *Vulvärer intraepithelialer Neoplasie* (VIN) nach der Therapie, abhängig vom histologischen Typ (HPV-assoziiert oder HPV-negativ) untersucht. Dabei wurden die Daten von Patientinnen, die zwischen Januar 2000 und Dezember 2020 an der Abteilung für Gynäkologie des LKH-Univ. Klinikum Graz behandelt wurden, mittels deskriptiver Statistik ausgewertet und graphisch dargestellt.

### **Methoden:**

Die Studie verwendet ein retrospektives Studiendesign und basiert auf der Auswertung von Patientinnendaten der Abteilung für Gynäkologie. Einschlusskriterien waren Frauen, die zwischen Januar 2000 und Dezember 2020 die Diagnose *Vulväre intraepitheliale Neoplasie* erhalten und hinsichtlich dieser an der Abteilung für Gynäkologie des LKH-Univ. Klinikum Graz therapiert wurden. Ausschlusskriterien waren Patientinnen, die eine andere vulväre bzw. HPV-assoziierte Diagnose hatten und keine ausreichende Dokumentation vorweisen konnten.

Die Ergebnisse der Analyse wurden abschließend diskutiert und interpretiert. Die Diplomarbeit hat das Ziel, einen möglichen Zusammenhang zwischen dem histologischen Typ und der Rezidivrate bei VIN-Patientinnen zu erforschen.

### **Resultate:**

258 Patientinnen mit VIN wurden identifiziert, 234 Patientinnen davon erfüllten die Einschlusskriterien. Die Patientinnen wurden anhand der histologischen Klassifikation der VIN in drei Gruppen eingeteilt: HPV-assoziiert, differenzierte VIN (d-VIN) und eine Gruppe ohne eindeutige histologische Klassifikation. Die HPV-assoziierte VIN-Gruppe war mit 77% (n=181) die größte Gruppe, gefolgt von der d-VIN-Gruppe mit 9% (n=21). Das Durchschnittsalter betrug 49 Jahre, 47% (n=109) waren zum Zeitpunkt der Diagnose postmenopausal. 55% (n=129) der Patientinnen rauchten. 33% der Patientinnen hatten nach erfolgter Therapie ein Rezidivereignis. Insgesamt hatten 38% der HPV-assoziierten Gruppe ein Rezidiv nach Lasertherapie, 30% nach kombinierter Laser- und Exzisionstherapie, 51% nach Imiquimod-Therapie und nur 9% nach Exzisionstherapie.

In der d-VIN-Gruppe hatten 38% nach Laserbehandlung und 45% nach Exzisionstherapie ein Rezidiv.

**Interpretation:**

Insgesamt stimmen die Ergebnisse dieser retrospektiven Datenanalyse mit bestehenden Vergleichsstudien überein. Die vorliegenden Daten bestätigen die hohen Rezidivraten bei d-VIN als auch bei HPV-assoziiierter VIN und unterstreichen die klinische Bedeutung von regelmäßigen Kontrolluntersuchungen nach der Behandlung von VIN.

## Abstract

In the following thesis, the number of recurrences in patients with *vulvar intraepithelial neoplasia* (VIN) after therapy, depending on the histological type (HPV-associated or HPV-negative), is examined. Data from patients treated at the Division of Gynaecology at the University Clinic of Graz between January 2000 and December 2020 were analyzed using descriptive statistics and presented graphically.

### Methods:

The study uses a retrospective study design and is based on the analysis of patient data from the Division of Gynaecology. Inclusion criteria were women who received a diagnosis of *vulvar intraepithelial neoplasia* between January 2000 and December 2020 and were treated for this at the Division of Gynaecology at the University Clinic of Graz. Exclusion criteria were patients who had another diagnosis and could not provide sufficient documentation.

The results of the analysis were finally discussed and interpreted. The thesis aims to explore a possible relationship between histological type and recurrence rate in VIN patients.

### Results:

258 patients with VIN were identified, 234 of whom met the inclusion criteria. Patients were divided into three groups based on the histological classification of VIN: HPV-associated, differentiated VIN (d-VIN) and a group with no clear histological classification. The HPV-associated VIN group was the largest group with 77% (n=181), followed by the d-VIN group with 9% (n=21). The mean age was 49 years, 47% (n=109) were postmenopausal at the time of diagnosis. 55% (n=129) of the patients smoked. 33% of the patients had a recurrence after treatment.

Overall, 38% of the HPV-associated group had a recurrence after laser therapy, 30% after combined laser and excision therapy, 51% after imiquimod therapy and only 9% after excision therapy.

In the d-VIN group, 38% had a recurrence after laser treatment and 45% after excision therapy.

**Interpretation:**

Overall, the results of this retrospective data analysis are consistent with existing comparative studies. Our data confirms the high recurrence rate after treatment for d-VIN but also HPV-associated VIN and highlights the importance of clinical follow-up after VIN treatment.

# 1 Einleitung

## 1.1 Das äußere weibliche Genitale - Vulva (Pudendum)

### 1.1.1 Anatomie

Die äußeren weiblichen Geschlechtsorgane befinden sich aus anatomischer Sicht unter- beziehungsweise außerhalb des weiblichen Beckenbodens und umfassen den Scheidenvorhof (*Vestibulum vaginae*), die Schamlippen (*Labia majora et minora pudendi*), den Kitzler (*Clitoris*) und den Schamberg (*Mons pubis*) (1, 2).

Der *Mons pubis*, ein dreiseitiger Haut-Fett-Polster, bildet den vorderen Anteil der *Vulva* und liegt oberhalb und vor der *Symphyse*. Er trägt bei der geschlechtsreifen Frau die Terminalbehaarung, welche nach cranial in einer queren Linie endet und sich nach caudal bis über die *Labia majora pudendi* fortsetzt.

Die *Labia majora pudendi*, welche als pralle Hautfalten vom *Mons pubis* bis hin zum Damm reichen, fassen zwischen sich die mediane Schamspalte (*Rima pudendi*), bedecken die kleinen Schamlippen und stellen die äußere Begrenzung der Scheide dar. Bei Nullipara ist die Schamspalte gewöhnlich geschlossen, nach mehreren Geburten kann sie von leicht geöffnet bis hin zu weit klaffend sein. Die beiden *Labia majora* vereinigen sich ventral zur *Commisura labiorum anterior* und dorsal zur *Commisura labiorum posterior*. An der Außenseite ist die mit Haaren, Talg- und Schweißdrüsen ausgekleidete Haut pigmentiert und trocken. Zur Innenseite hin nimmt die Anzahl an Talg- und Schweißdrüsen ab und das Epithel ist dort lediglich schwach verhornt, die Haut imponiert rötlicher, weicher und feuchter und gleicht einer Schleimhaut. Die großen Labien bestehen aus reichlich Fett- und Bindegewebe sowie glatter Muskulatur, Nerven und Gefäßen (1-3). Ebenso strahlen die Fasern der *Ligamenta teretes uteri* in das Bindegewebe der *Labia majora* ein (3, 4). Ein großes Venengeflecht bildet die Grundlage für den Schwellkörper (*Bulbus vestibuli*), welcher vom *M. bulbospongiosus* bedeckt wird und sich ventral über die schmale *Pars intermedia bulborum* vereinigt. Der Schwellkörper liegt dem *Vestibulum vaginae* nach medial hin an (1, 2).

Innerhalb der *Labia majora* liegen die *Labia minora pudendi*, welche als dünne, fettfreie Hautfalten den Scheidenvorhof umgeben (1, 3). Dorsal, unmittelbar vor der

hinteren Kommissur, sind die beiden Labien über ein zartes Hautbändchen dem *Frenulum labiorum* miteinander verbunden, welches nach der ersten vaginalen Geburt verschwindet (1-3). Ventral laufen sie in je zwei kleine Falten aus, welche zum einen das *Frenulum clitoridis* und zum anderen das *Praeputium clitoridis* bilden und die *Clitoris* umgeben (1, 3). Die *Labia minora* bestehen aus lockerem Bindegewebe mit zahlreichen elastischen Fasern und Venen (2, 3). Innen sind sie von unverhorntem und an der Außenseite von schwach verhorntem mehrschichtigem Plattenepithel ausgekleidet (2). An der Innenseite der *Labia minora*, seitlich des *Ostium vaginae*, mündet paarig die Bartholin-Drüse (*Glandula vestibularis major*). Die tuboalveolären Drüsen liegen im *Diaphragma urogenitale*, sind erbsengroß und sezernieren bei Erregung und während des Orgasmus ein alkalisches Sekret (2, 3). Der Sekretionsreflex wird vom Parasympathikus gesteuert und dient zur besseren Gleitfähigkeit des Scheideneinganges (3).

Der zwischen den kleinen Schamlippen und dem *Hymen* gelegene Raum wird als Scheidenvorhof (*Vestibulum vaginae*) bezeichnet (3, 4). Dieser schließt am Scheideneingang an die Vagina an und wird nach vorne hin durch das *Frenulum clitoridis* und hinten vom *Frenulum labiorum* begrenzt (2, 3). Im Scheidenvorhof münden zum einen die Harnröhre (*Urethra*) mit ihrem *Ostium urethrae externum*, die Scheide (*Vagina*) mit dem *Ostium vaginae* sowie die Ausführungsgänge der großen und kleinen *Glandulae vestibulares* (2-4).

Der Übergang von *Vagina* zu *Vestibulum* wird durch die Scheidenklappe (*Hymen*), welche meist als halbmondförmige, quere Hautfalte das *Ostium vaginae* vom Scheideneingang abgrenzt, partiell verschlossen (1-3). Der *Hymen* bildet anatomisch die Begrenzung von äußerem und innerem Genitale (3). Die Scheidenklappe kann unterschiedliche Formen annehmen, beispielsweise ringförmig, anularis, siebförmig oder geteilt sein. Bei vollständigem Verschluss (*Hymenalatresie*) muss dieser jedenfalls vor der *Menarche* operativ geöffnet werden (3). Beim ersten *Koitus* zerreißt er typisch radiär und nach der ersten vaginalen Geburt verbleibt er lediglich rudimentär als *Carunculae hymenales* im Scheideneingang (2, 3).

Dem *Vestibulum vaginae* liegen beidseits die *Bulbi vestibuli* an, welche aus einem kräftigen Venenplexus bestehen, und weiche, erektile Polster bilden. Die *Bulbi vestibuli* zählen gemeinsam mit der *Clitoris* zu den Schwellkörpern des weiblichen Genitales (3).

Die *Clitoris*, auch Kitzler genannt, ist ein reich an sensorischen Nervenfasern innerviertes Organ und dient der Aufnahme stimulierender sexueller Reize (1, 4). Sie entspricht anatomisch den *Corpora cavernosa penis* des Mannes (3). Die Basis der Clitoris bildet der paarig angelegte kurze Schwellkörper, *Corpus cavernosum clitoridis*, welcher von der *Fascia clitoridis* bedeckt wird und als unpaarer Schaft in der *Glans clitoridis* endet (3, 4). Im Schaft, dem *Corpus clitoridis*, werden die *Corpora cavernosa clitoridis dextra et sinistra* unvollständig durch das *Septum corporum cavernosum* geteilt (1, 3). Die beiden Schenkel, *Crura clitoridis*, der Schwellkörper befestigen gemeinsam mit dem *Ligamentum suspensorium clitoridis* die *Clitoris* am unteren Symphysenast (2, 4). Die Schenkel werden wiederum von den *Mm. ischiocavernosi* umhüllt, welche eine zusätzliche Befestigung bieten (1, 2).

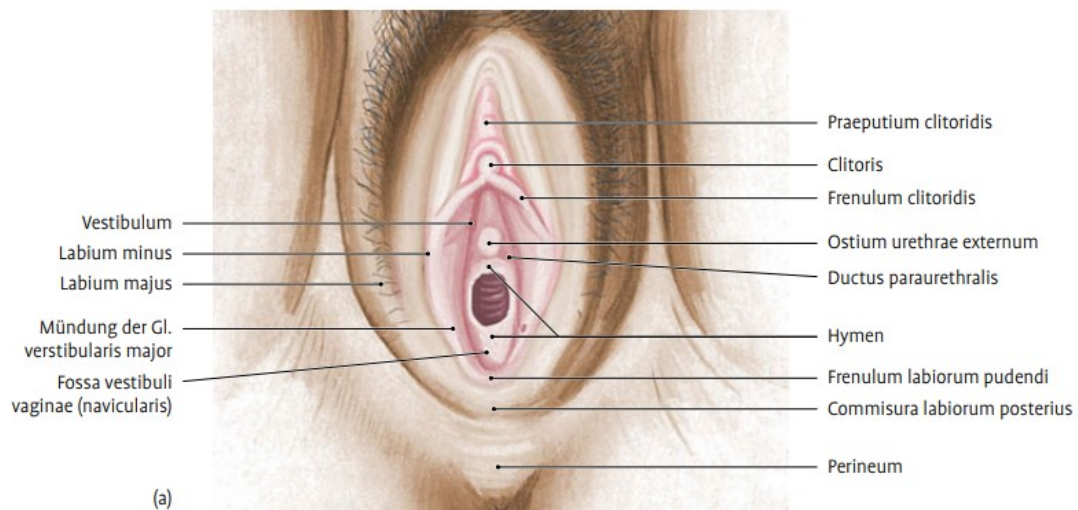


Abbildung 1: Äußere Geschlechtsteile einer Jungfrau. Hymen intactus (3)

## 1.2 Die Vulväre intraepitheliale Neoplasie

Unter dem Begriff *Vulväre intraepitheliale Neoplasie* kurz VIN, werden alle präkanzerösen Vorstufen der Vulva zusammengefasst (5-7). Als Präkanzerösen werden potenzielle Vorläuferläsionen eines invasiven Vulvakarzinoms bezeichnet, welche durch zelluläre Atypien gekennzeichnet sind (5). In Abhängigkeit vom Ausmaß dieser Atypien werden diese in verschiedene Schweregrade gruppiert und anhand ihres Dysplasiegrades in leicht, mittel und schwere Dysplasie geordnet (5, 6).

Tabelle 1: Einteilung der VIN nach WHO (5)

Einteilung	Schweregrad	Histologie
VIN I	Leichte Dysplasie/intraepitheliale Neoplasie	Atypien im unteren Drittel des Epithels
VIN II	Mittelschwere Dysplasie/intraepitheliale Neoplasie	Atypien im unteren und mittleren Drittel des Epithels
VIN III	Schwere Dysplasie/intraepitheliale Neoplasie	Epithel durchgehend atypisch

### 1.2.1 Klassifizierung

Laut WHO 2020 werden die *Vulvären intraepithelialen Neoplasien* anhand ihrer Assoziation mit HPV in HPV-assoziiert und HPV-negativ unterteilt.

Diese Gliederung sieht für VIN ohne HPV-Assoziation die Verwendung des Terminus HPV-unabhängige VIN vor, welche wiederum in drei Unterkategorien aufgeteilt wird:

- die differenzierte VIN (d-VIN),
- die differenzierte exophytische VIN-Läsion (DEVIL) und
- die vulväre Akanthose mit abnormer Differenzierung (VAAD).

Diese drei Formen können jedoch auch als überschneidende Läsionen auftreten(8).

Die HPV-unabhängige VIN hat ihren Altersgipfel mit 70,2 Jahren, ist histologisch gesehen meist keratinisierend und häufig mit Dermatosen wie dem Lichen sclerosus assoziiert (8, 9). Obwohl die Mehrheit der Vulvakarzinome HPV-unabhängig sind, macht die d-VIN lediglich 2-10% aller gemeldeten VIN aus. Man geht davon aus, dass der Anteil an d-VIN so klein ist, weil die Läsionen rasch in ein invasives Karzinom übergehen (9-11).

Die Onkogenese der HPV-unabhängigen VIN hängt mit oxidativem Stress zusammen, wobei vor allem p53-, PTEN-Mutationen und eine Instabilität von Mikrosatelliten präsent sind(9, 12-16). Zusätzlich wird eine Assoziation mit RASSF2A, MGMT und TSP-1 Genen untersucht, welche zu einer Transkriptionshemmung durch Methylinisierung führen (9, 17, 18).

Bei der HPV-assoziierten VIN hingegen besteht ein Versagen des Immunsystems beziehungsweise eine inadäquate oder fehlende Reaktion auf die high-risk HPV-Typen, welches zur Persistenz dieser führt (9, 19). Je länger die Infektion persistiert, desto länger können die Onkoproteine des Virus, E6 und E7, die Kontrollmechanismen der Zellteilung beeinflussen und so schließlich der Apoptose und Transformation entgehen (9, 20-24).

Für die HPV-assoziierte VIN werden zwei Klassifizierungssysteme verwendet (9, 25). Zum einen die Klassifizierung der WHO in VIN I-III und zum anderen die Klassifizierung nach dem Lower Anogenital Squamous Terminology Committee (LAST) in L-SIL (low-grade squamöse intraepitheliale Läsion, inclusive Infektion) und H-SIL (high-grade squamöse intraepitheliale Läsion) (9, 26).

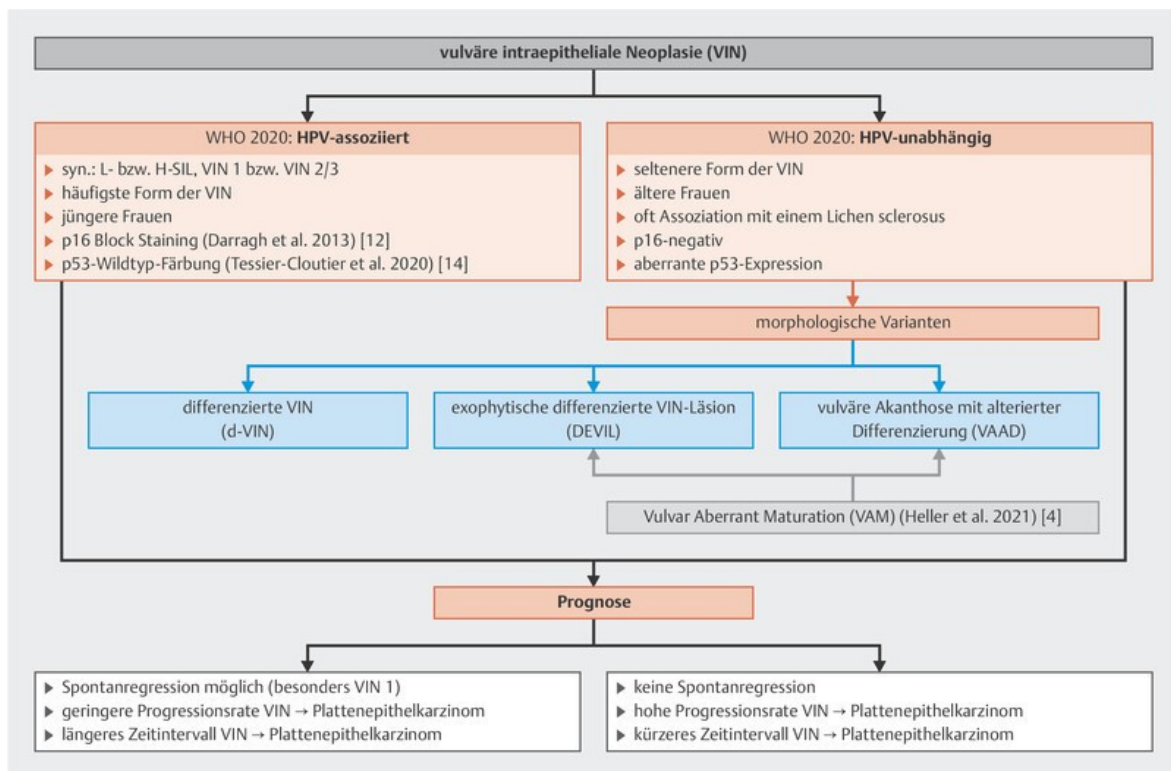


Abbildung 2: Klinikopathologische Charakteristika der WHO-Klassifikation 2020 der vulvären Präkanzerosen (8)

Um eine VIN histologisch klassifizieren zu können bedarf es einer Beurteilung folgender Kriterien:

- Mitoserate
- Auftreten großer Nuklei
- Störung der Kern-Plasma-Relation

- Hyperchromasie
- Verhornung der Zellen
- Riesenzellbildung
- Basale Hyperplasie

Ebenfalls mitzubeurteilen ist der Status der Basalmembran, wobei diese bei allen *Vulvären intraepithelialen Neoplasien* intakt ist und keine Stromainvasion besteht (6, 7). Ein Durchbruch der Basalmembran würde in ein infiltrierendes Karzinom resultieren, welches von den vulvären Präkanzerosen beziehungsweise der VIN abzugrenzen ist (5).

Tabelle 2: Klinikopathologische Charakteristika von Plattenepithelkarzinomen der Vulva (8)

	<b>HPV-assoziiert p16+/p53-</b>	<b>HPV-unabhängig p16-/p53+</b>	<b>Unklar p16-/p53-</b>
Häufigkeit	40%	50-60%	20%
Alter	40.-60. Lebensjahr	50.-70. Lebensjahr	60.-70. Lebensjahr
Präkanzerose	VIN 2/3 (H-SIL)	HPV-unabhängige VIN (d- VIN, ?VAAD, ?DEVIL)	? (d-VIN-/VAAD- like?)
Ätiopathogenese	HPV High-Risk- Infektion	p53-Ateration	? (NOTCH-1- /HRAS-/PIK3CA- Mutation?)
Biomarker- Expression	p16-positiv (block staining)	p53-aberrantes Färbemuster	p16-negativ/ p53 wt
Histologie	nicht keratinisierend (ca.66%)	keratinisierend (80- 90%)	keratinisierend/ nicht keratinisierend
Inguinale Lymphknoten- metastasen	30%	40%	30%
Radio(chemo)- sensitivität	i.d.R. sensitiv	weniger sensitiv	mglw. weniger sensitiv
Prognose	besser	schlechter	intermediär

## **1.2.2 Epidemiologie und Ätiologie**

Die Prävalenz der VIN hat in den vergangenen Jahrzehnten eine deutliche Zunahme erlebt, wobei die Inzidenz, also die Neuerkrankungsfälle pro Jahr pro 100.000 Einwohner einen Wert von 2,1:100.000 angenommen hat. Vor allem in der Altersgruppe 30–40-jähriger Frauen wird ein Zuwachs der Fälle deutlich.

Diesen Zuwachs erklärt man sich unter anderem durch die Assoziation mit dem humanen Papilloma Virus (HPV), wobei in 80-90% der Fälle die Virus-DNA nachgewiesen und die Onkogene Potenz des Virus belegt werden kann (5, 6, 27).

### **1.2.2.1 Humanes Papilloma Virus**

Die Humanen Papilloma Viren kurz HPV sind dermatotrope Infektionserreger, die in der Gesellschaft weitverbreitet und Auslöser für eine Vielzahl an krankhaften Hauteffloreszenzen sind (28-31).

HP-Viren sind DNA-Viren, deren Genom in einem Kapsid verpackt ist. Eine Infektion beginnt in einer basalen Stammzelle, wobei spezifische Genprodukte transkribiert werden. Dabei ist besonders die Proteinexpression der viralen Onkoproteine E6 und E7 von Bedeutung, welche die DNA-Replikation induzieren sowie den programmierten Zelltod, die Apoptose, der DNA-produzierenden Zellen verhindern, und somit eine unkontrollierte Replikation des Virus ermöglichen (32).

Die HP-Viren werden von Mensch zu Mensch über direkten Hautkontakt oder durch Schmierinfektion von kontaminierten Oberflächen übertragen. Im Laufe ihres Lebens infizieren sich mehr als die Hälfte aller sexuell aktiven Frauen mit HPV von verschiedenem Typus. Das Risiko, sich mit dem HP-Virus zu infizieren, korreliert mit der Anzahl der GeschlechtspartnerInnen und nimmt mit häufigem Wechsel der SexualpartnerInnen zu, wodurch auch das Risiko sich mit mehreren HPV-Typen gleichzeitig zu infizieren steigt. Bei etwa 40% der Infizierten kommen Co-Infektionen vor.

Grundsätzlich ist der Körper dazu in der Lage, durch eine adäquate Immunantwort, eine Infektion auszuheilen und eine Persistenz dadurch zu verhindern. In bis zu 20% kommt es jedoch zur Beständigkeit des Virus über viele Jahre hinweg und folglich kann dies zur Entwicklung von Dysplasien und malignen Karzinomen führen. Wobei

mehr als 99% der Zervixkarzinome und mehr als 90% der Genitalwarzen durch HP-Viren ausgelöst werden (32).

Die HP-Viren werden hinsichtlich ihres onkogenen Potentials in „low-risk“ und „high-risk“ Virusgruppen differenziert, wobei „high-risk“ Viren mit einem höheren Entartungsrisiko korrelieren.

Die Virustypen 16,18,31 und 45 gehören zur Gruppe der „high-risk“ Viren und sind für 50% der leichtgradigen und etwa 65% der höhergradigen Dysplasien verantwortlich.

Zur Gruppe der „low-risk“ Viren zählen HPV 6 und 11, welche vor allem leichtgradige (12%) intraepitheliale Neoplasien und Genitalwarzen (80%) hervorrufen (32).

Eine Infektion mit HPV ist weltweit für mindestens 50% der durch Infektionen ausgelösten Karzinome bei Frauen verantwortlich, in der männlichen Population lediglich für 5% (32).

### **1.2.3 Prävention**

Da es sich bei der Erkrankung um eine Infektionskrankheit handelt ist die Möglichkeit einer primären Prävention z.B. durch eine Impfung gegeben, da ohne eine Ansteckung mit dem Virus die Entstehung von Dysplasien weitgehend verhindert werden kann.

Der Hauptbestandteil der HPV-Impfung ist das L1-Protein, welches aus der Virushülle stammt und hauptsächlich für die Immunantwort verantwortlich ist (32).

In Österreich wird derzeit der 9-fach Impfstoff Gardasil9, der die HPV-Typen 6,11,16,18,31,33,45,52 und 58 enthält, empfohlen (33-35). Der Impfstoff wird ab dem vollendeten 9. Lebensjahr geimpft und sollte generell vor dem ersten Sexualkontakt verabreicht werden, da die Impfung prophylaktisch wirksam ist (34, 36). Da sich beide Geschlechter mit dem Virus infizieren und daran erkranken können, wird eine Impfung von Frauen und Männern zur Unterbrechung der Infektionskette als besonders wichtig erachtet (34, 37-39).

Die Impfung wird ebenfalls nach bereits durchgemachter Infektion empfohlen, da Re-Infektionen, sowie Co-Infektionen mit einem anderen Virus-Typus dadurch

verhindert werden können (34, 40). Zusätzlich wird das Rezidivrisiko maßgeblich durch eine Immunisierung gesenkt (34, 41).

In besonderen Situationen, wie etwa nach infektionsgefährdendem Sexualverkehr oder nach sexuellem Übergriff besteht die Indikation für eine Postexpositionsprophylaxe mittels 2- beziehungsweise 3-maliger Impfung (34, 42).

#### **1.2.4 Klinik**

Das klinische Erscheinungsbild der *Vulvären intraepithelialen Neoplasien* variiert stark. So geben in etwa 50% der Betroffenen Juckreiz und vereinzelt Brennen und Schmerzen an. Die andere Hälfte weist keinerlei Beschwerden auf. Zusätzlich zu den eher spezifischen Symptomen können unspezifische Hautveränderungen wie Ödeme, Pigmentflecken, Leukoplakien, Rötungen sowie Erhabenheiten auftreten (5).

#### **1.2.5 Therapie**

Die Therapie der VIN richtet sich in der Regel nach den Merkmalen der Läsion (Größe, Konfiguration, Lage, Multifokalität und Multizentralität), nach dem Individuum (Alter, Allgemeinzustand, Symptomatik, Begleiterkrankungen, psychologische Probleme, Arbeitsumfeld und Zuverlässigkeit bei der Nachsorge) und den verfügbaren Ressourcen sowie medizinischen Fähigkeiten (9, 43).

Die ideale Behandlung sollte die Läsion vollständig zerstören, die Symptome verbessern, eine Invasion ausschließen, die Morphologie so wenig wie möglich verändern, die Funktion der Vulva erhalten und Rezidive vermeiden. Bislang erreicht jedoch keine der angewandten Behandlungen diese Ziele vollständig. Die hohe Morbidität und die mit chirurgischen Eingriffen verbundenen Rezidive machen es erforderlich, die verfügbaren früheren Erkenntnisse über weniger invasive, aber wirksame Interventionen bei VIN zu reevaluieren (9, 44).

Beide VIN-Typen (HPV-assoziiert und nicht HPV-assoziiert) bedürfen einer engen Nachsorge, da beide Formen eine hohe Rezidivrate haben (9, 45, 46).

An der Abteilung für Gynäkologie am Universitätsklinikum Graz werden den Patientinnen Kontrollen im Intervall von 6-12 Monaten empfohlen. Diese Kontrollen können entweder an der Klinik oder beim niedergelassenen Facharzt beziehungsweise der niedergelassenen Fachärztin wahrgenommen werden. Sollte es im Kontrollintervall zu unklaren Veränderungen im Bereich der Vulva kommen, wird eine Vorstellung in der Dysplasie Ambulanz am Klinikum Graz empfohlen.

Die Dauer und Häufigkeit der Nachsorge kann die Progressionsrate, die Symptomatik und die Lebensqualität (QoL) beeinflussen.

Obwohl alle Frauen einem gewissen Karzinomrisiko ausgesetzt sind, haben ältere Frauen, insbesondere postmenopausal, ein höheres Risiko für SCC (Squamous Cell Carcinoma) zum Diagnosezeitpunkt als auch während der Nachsorge (9, 47).

Da die Inzidenz der HPV-assoziierten VIN vor allem in der jungen Population steigt und in dieser Population eine geringere Progressionsrate vorherrscht, rückt das konservative Management immer mehr in den Vordergrund. Gründe dafür sind vor allem die Auswirkungen von exzessiver Chirurgie auf das Körpergefühl und die damit verbundenen psychosexuellen Probleme (9).

### **1.2.5.1 Operative Therapie**

Die lokale Exzision beinhaltet die Entfernung aller sichtbaren Läsionen und kann mit verschiedenen Techniken durchgeführt werden, unter anderem mittels Skalpells, Elektrochirurgie oder Lasers. Im Wesentlichen konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede der Techniken festgestellt werden und alle Verfahren weisen eine ähnliche Wirksamkeit vor (9, 46, 48).

#### **1.2.5.1.1 Exzision**

Chirurgische Exzision:

Die Exzision war lange das Mittel der Wahl bei der Behandlung der VIN.

Studien zeigen, dass positive Resektionsränder das Fortschreiten der VIN nicht vorhersagen können und umfangreiche großflächige Resektionen keine Heilung garantieren (9, 49). Aus diesem Grund sollte die Exzision so konservativ wie möglich erfolgen, da dadurch die QoL der Patientinnen maßgeblich beeinflusst wird (9, 50).

Skinning Vulvektomie:

Bei extensiver oder multifokaler VIN kann eine sogenannte Skinning Vulvektomie performt werden. Hierbei wird die Epidermis und die darunterliegende Dermis der Vulva entfernt und schließlich mit einem autotransplantierten Gewebe gedeckt. Dieses Prozedere wurde früher vor allem bei jungen Frauen eingesetzt, die eine extensive Ausbreitung vorweisen, um die Anatomie und Sexualfunktion der Vulva weitgehend zu erhalten. Da die postoperative Nachsorge dieser Behandlung jedoch sehr aufwendig ist, wird dieses Verfahren kaum angewendet (51, 52).

#### **1.2.5.1.2 Lasertherapie**

Die Entfernung mittels CO<sub>2</sub> Laser ist ein weiteres chirurgisches Verfahren zur Behandlung der VIN, welches die maximale Erhaltung des vulvären Gewebes und dessen Funktion ermöglicht. Diese Therapie sollte jedoch nur bei Fällen angewandt werden, bei denen eine invasive Malignität weitgehend ausgeschlossen werden kann. Präoperativ und auch intraoperativ sollen diagnostische Probeexzisionen durchgeführt werden.

Die Behandlung mittels Laser ist vor allem bei jungen Patientinnen mit multifokaler HPV-assoziiertes VIN indiziert, da in dieser Gruppe das Risiko für eine invasive Ausbreitung gering ist.

Vor der Durchführung der Laserablation wird Essigsäure auf die Vulva aufgetragen und zur Bestimmung der zu behandelnden Stellen wird eine Kolposkopie durchgeführt (51, 52).

### **1.2.5.2 Konservative medikamentöse Therapie**

Obwohl die chirurgische Exzision, den Vorteil der Probengewinnung bietet, ist das Risiko für Rezidive hoch und nicht alle Patientinnen sind für eine operative Entfernung geeignet, sei es wegen Lokalisation der Läsion oder medizinischen Komorbiditäten, die eine Operation unmöglich machen. Das Rezidivrisiko nach einer operativen Sanierung liegt zwischen 18 und 23% (51, 53).

Die Wahl der Behandlung ist von läsionsspezifischen als auch patientenspezifischen Faktoren abhängig. Zu den häufigsten konservativen medikamentösen Behandlungsmöglichkeiten gehören die topische Therapie mit immunmodulierenden Medikamenten oder die antivirale Therapie (51, 54).

#### **1.2.5.2.1 Imiquimod**

Imiquimod ist ein immun-modulierendes Medikament, das zur topischen Anwendung an der Vulva verwendet wird und im Anwendungsgebiet eine lokale Immunreaktion auslöst. Imiquimod agiert hier als Agonist am toll-like Rezeptor 7, welcher zu einem Ausstrom von Interferon- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  und Interleukin 1,6 und 8 aus den dermalen dendritischen Zellen führt. Diese Freigabe von Zytokinen lockt weitere plasmazytische dendritische Zellen aus der Blutbahn an und führt dadurch wiederum zu einer Erhöhung der Zytokine im Gewebe. Diese Zytokinausschüttung im Anwendungsgebiet bewirkt eine Steigerung der Effektivität von natürlichen Killerzellen, welche daraufhin HPV-infizierte und karzinomatöse Zellen angreifen und zerstören (51, 53). Imiquimod ruft eine synergistische und adaptive Reaktion des Immunsystems hervor, die zur Reifung und Migration von Langerhans-Zellen in die Lymphknoten führt. Dieser Prozess resultiert schließlich in der Präsentation von Antigenen, die anschließend eine TH1-Immunantwort auslösen, welche tumorspezifische T-Zellen dazu veranlasst, die Haut zu infiltrieren um die Produktion von Antikörpern durch B-Zellen zu induzieren und somit die Antigenpräsentation zu steigern (51, 53).

Applikation:

Eine dünne Schicht Imiquimod 5% Creme wird zwei- oder dreimal wöchentlich auf die Läsion aufgetragen und verbleibt über Nacht ohne Abdeckung. Die Therapie erfolgt über einen Zeitraum von 12 bis 16 Wochen (9, 55).

Bei der Behandlung mit Imiquimod kommt es häufig zu lokalen Nebenwirkungen wie etwa Juckreiz, Brennen, Schmerzen und systemischen grippeähnlichen Symptomen (51, 53). Sollten diese Nebenwirkung während der Behandlung auftreten, kann die Applikation auf einmal pro Woche reduziert werden. Die Patientinnen müssen während der Applikationsdauer beobachtet und hinsichtlich der Effektivität der Behandlung, den Symptomen und der Nebenwirkungen kontrolliert werden (9, 55).

Eine 2022 im Lancet publizierte multizentrische, randomisierte, klinische Nichtunterlegenheits-, Phase-3-Studie verglich die primäre Imiquimod-Behandlung mit der chirurgischen Behandlung von Frauen mit vulvärer HSIL. Die PITVIN Studie wurde von der österreichischen Gruppe für Gynäkologische Onkologie an sechs Krankenhäusern in Österreich durchgeführt, wobei ein Großteil der Patientinnen an der Univ. Frauenklinik Graz rekrutiert und behandelt wurde (56).

Ziel der Studie war es die klinische Effektivität, histologische Antwort, HPV-Clearance, Akzeptanz und psychosoziale Morbidität der beiden Therapieformen zu vergleichen und hinsichtlich der klinischen Relevanz zu beurteilen (56).

Zu Beginn der Studie wurden die Patientinnen mittels Randomisierung entweder der Imiquimod- oder der Operationsgruppe zugeteilt. Die Behandlung mit Imiquimod wurde hierbei über einen Zeitraum von vier bis sechs Monaten bis zu dreimal pro Woche selbstappliziert. Der chirurgische Eingriff hingegen bestand in der Exzision oder Abtragung der vorhandenen Läsion an dem behandelnden Krankenhaus. Im Zeitraum von Juni 2013 bis Januar 2020 wurden insgesamt 110 Frauen im Alter von 18 bis 90 Jahren mit vHSIL nach dem Zufallsprinzip einer der beiden Gruppen zugeteilt und dementsprechend behandelt. Die Patientinnen erhielten über einen Zeitraum von einem Jahr gezielte Nachkontrollen bezüglich des Therapieerfolges. Der primäre Endpunkt der Studie war das vollständige klinische Ansprechen der Therapie mittels lokaler Imiquimod-Behandlung oder einem chirurgischen Eingriff nach sechs Monaten. 80% der Frauen der Imiquimod-Gruppe und 79% der Chirurgie-Gruppe erreichten nach 6 Monaten den Endpunkt der Studie. Als

Ergebnis der Studie konnte ermittelt werden, dass die Therapie mittels Imiquimod eine sichere, effektive und gut akzeptierte alternative zur chirurgischen Therapie für Frauen mit vHSIL ist und als first-line Therapie betrachtet werden kann (56).

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Studienziele**

Die Kernfrage dieser Diplomarbeit beschäftigt sich mit der Anzahl an Rezidiven nach erfolgter Therapie der *Vulvären intraepithelialen Neoplasie* bei betroffenen Patientinnen in Abhängigkeit vom histologischen Typ HPV-assoziiert vs. HPV-negativ.

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, die Daten der Patientinnen, die im Zeitraum 2000-2020 an der Abteilung für Gynäkologie hinsichtlich einer VIN behandelt wurden, einzugeben und adäquat mittels deskriptiver Statistik auszuwerten und graphisch darzustellen.

### **2.2 Ein- und Ausschlusskriterien**

Einschlusskriterien:

Frauen, die zwischen 01.2000 und 12.2020 am Universitätsklinikum Graz die Diagnose *Vulväre intraepitheliale Neoplasie* erhalten haben und hinsichtlich dieser an der Abteilung für Gynäkologie des LKH-Univ. Klinikum Graz therapiert wurden. Zudem wurden nur Patientinnen in die retrospektive Studie eingeschlossen, deren Behandlung ausreichend digital dokumentiert wurde.

Ausschlusskriterien:

Patientinnen, welche eine andere vulväre bzw. HPV-assoziierte Diagnose (Vaginale intraepitheliale Neoplasie, Condylomata accuminata, Vulvakarzinom , etc.) erhalten haben und keine ausreichende Dokumentation vorweisen konnten.

### **2.3 Studiendesign und Untersuchungszeitraum**

Als Studiendesign wurde die retrospektive Datenanalyse basierend auf der Auswertung von Patientinnendaten der Abteilung für Gynäkologie gewählt.

Diese Methode wurde gewählt, da in der Diplomarbeit Rückschlüsse über die Rezidivanzahl nach erfolgter Therapie in Abhängigkeit vom Typ der *Vulvären*

*intraepithelialen Neoplasie* (HPV-assoziiert vs. HPV-negativ) im Zentrum der Forschungsfrage stehen.

In der Analyse wurden Datensätze von 01.2000 - 12.2020 untersucht und anschließend mit adäquaten statistischen Analysen sowie abschließender Diskussion interpretiert.

## **2.4 Retrospektive Analyse**

### **2.4.1 Ethikvotum**

Die Daten der Diplomarbeit wurden im Rahmen der Studie „VIN and vulvar carcinoma – progress of incidence and therapy – a retrospective study“ EK-Nr.33-251 erhoben. Diese Studie erhielt am 09.04.2021 ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz.

### **2.4.2 Datenerhebung**

Nach dem positiven Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz wurde mit der Erhebung der patientenbezogenen Daten begonnen. Im Zuge der Datenrecherche wurde auf elektronische Krankenakten, Ambulanzkarten, OP-Berichte, Histologiebefunde und Labordaten der Abteilung für Gynäkologie, über das Open MEDOCS System, zugegriffen.

Open MEDOCS ist das am Universitätsklinikum Graz verwendete elektronische Dokumentationssystem für patientenbezogene Daten.

Als Studentin erhielt ich Zugriff auf die Rubrik „Historie“, wodurch ich nach Eingabe von Namen und Geburtsdatum die für die Studie ausgewählten Parameter der Patientinnen erheben konnte.

Folgende Parameter wurden von mir erhoben und pseudonymisiert in eine Excel-Tabelle eingetragen:

Patientinnen ID
Geburtsdatum
Alter zum Diagnosezeitpunkt
Menopause [ja/nein]
Parität
Datum der Diagnose am Univ. Frauenklinikum Graz
Diagnose laut Bericht
Histologische Klassifikation
Größe der Läsion/ Durchmesser [cm]
HPV-assoziiert [ja/nein]
Differenziert [ja/nein]
PAP-Befund zum Diagnosezeitpunkt
HPV-Status [positiv/negativ]
HPV-Typen
Dermatosen
Immunstatus
Co-Morbiditäten
Diabetes Mellitus
GI-Erkrankungen
Nikotinabusus [ja/nein]
Teilnahme an PITVIN-Studie [ja/nein]
Therapieverfahren
Datum der Therapie
Nachbehandlung
Rezidiv [ja/nein]
Anzahl der Rezidive
Zeit zwischen Therapie und Rezidiv 1 in Monaten

### 2.4.3 Patientinnenkollektiv

In die retrospektive Analyse wurden alle Datensätze von Patientinnen eingeschlossen, die im Zeitraum von 01.2000 – 12.2020 die klinische Diagnose VIN

erhalten haben, am Universitätsklinikum Graz entweder konservativ oder operativ therapiert wurden und eine ausreichende digitale Dokumentation vorwiesen.

Es wurde an der Klinik eine Medocs Abfrage mit den Suchwörtern „VIN, *Vulväre intraepitheliale Neoplasie*“ im Zeitraum 2000 - 2020 durchgeführt, und mir eine entsprechende Liste übermittelt. Die Tabelle enthielt insgesamt 258 Datensätze, 24 dieser erfüllten die zuvor bestimmten Einschlusskriterien nicht, weshalb schließlich 234 Datensätze zur weiteren Verarbeitung verwendet werden konnten.

#### **2.4.4 Datenschutz**

Die finalen 234 Datensätze wurden pseudonymisiert in eine Excel-Tabelle eingetragen, auf einem Laufwerk eines Computers mit Zugriffsbeschränkung an der Abteilung für Gynäkologie gespeichert und nach Abschluss der Datensammlung von mir persönlich mittels deskriptiver Statistik ausgewertet.

Nur autorisierten Personen wurde der Zugriff auf die Originaldaten gewährt.

#### **2.4.5 Datenauswertung**

Die Datenauswertung erfolgte über das Microsoft Office365 Programm Excel. Die Daten wurden selbständig in Excel-Tabellen zusammengefasst und anschließend mittels deskriptiver Statistik interpretiert und bildlich dargestellt.

Im Wesentlichen konzentrierte ich mich auf folgende erhobene Parameter:

Alter zum Diagnose Zeitpunkt
Histologische Klassifikation
Assoziation mit HPV [ja/nein]
Nikotinabusus [ja/nein]
Therapieverfahren
Rezidiv [ja/nein]
Anzahl der Rezidive
Zeit zwischen Therapie und 1. Rezidiv in Monaten

Zu den genannten Parametern wurden Anzahl und prozentuelle Verteilung erhoben um anschließend mittels Tabellen und Diagrammen graphisch dargestellt zu werden.

## **3 Ergebnisse – Resultate mit graphischen Darstellungen**

### **3.1 Ergebnisse der retrospektiven Analyse**

Im Zeitraum von Januar 2000 – Dezember 2020 wurden 258 Patientinnen identifiziert, welche am Univ. Klinikum Graz die Diagnose VIN erhielten. Von diesen 258 Patientinnen erfüllten 24 die Einschlusskriterien nicht, weshalb schließlich 234 Patientinnen in die retrospektive Datenanalyse eingeschlossen wurden. Das Patientinnen-Kollektiv konnte auf der Basis der histologischen Klassifikation der VIN in drei Gruppen eingeteilt werden: die HPV-assoziierte VIN-Gruppe, die d-VIN-Gruppe und eine Gruppe ohne sichere histologische Klassifikation. Die HPV-assoziierten VIN stellen mit n=181 (77%) die größte Gruppe dar. 50 Patientinnen dieser Gruppe wurden im Rahmen der randomisierten PITVIN Studie (56) an der Frauenklinik mit Imiquimod lokal oder einer chirurgischen Therapie behandelt. 21 Patientinnen (9%) wurden mit einer d-VIN diagnostiziert und behandelt.

In 32 Fällen konnten in den Unterlagen keine genauen Angaben zur histologischen Klassifikation gefunden werden, wobei 29 (91%) dieser Fälle in den Jahren 2000-2010 erhoben wurden.

Das Durchschnittsalter der 234 Patientinnen, die in die retrospektive Studie aufgenommen wurden, lag bei 49 Jahren, wobei 47% (n=109) der Frauen zum Zeitpunkt der Diagnose bereits postmenopausal waren. Die jüngste Patientin mit der Diagnose VIN war 16 Jahre alt, während die älteste Patientin 86 Jahre alt war. 30% der Patientinnen waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung jünger oder gleich 40 Jahre alt.

Im Vergleich zwischen HPV-assoziierten und differenzierten VINs betrug das Durchschnittsalter 47 Jahre (HPV-assoziiert) und 58 Jahre in der d-VIN-Gruppe, wobei 72% der d-VIN-Gruppe und nur 44% der HPV-Gruppe bereits postmenopausal waren.

Die Untersuchung des Risikofaktors Nikotinabusus ergab, dass 55% (n=129) der 234 Frauen, welche an einer VIN erkrankten, regelmäßig Zigaretten konsumierten.

32% (n=75) gaben an Nichtraucherinnen zu sein und in 13% (n=30) konnte „keine Angabe“ hinsichtlich des Tabakkonsums erhoben werden.

Im Zuge der Befunderhebung wurde auch der PAP-Befund der Patientinnen ermittelt. Hier konnte bei 10% (n=18) der HPV-assoziierten VIN ein PAP IIID und bei 4% (n=7) ein PAP IV erhoben werden. In der d-VIN Population hatten ebenfalls 10% (n=2) ein PAP IIID, aber kein PAP IV.

Unter anderem wurde auch der Dysplasiegrad der VIN erhoben, wobei 76% der HPV-assoziierten und 95% der d-VIN-Gruppe eine schwere hochgradige Dysplasie entsprechend VIN III aufwiesen. Zur besseren optischen Darstellung wurden die in den Arztbriefen beschriebenen Rand- bzw. Mischgruppen (z.B. VIN II-III) der jeweils höheren Klassifikation zugeordnet.

*Tabelle 3: Charakteristika der Studienpopulation*

	<b>HPV-assoziierte VIN (n=181)</b>	<b>d-VIN (n=21)</b>	<b>Ohne sichere Zuordnung (n=32)</b>
Alter in Jahren	47 (13.9)	58 (17.8)	51 (14.3)
Parität	1(0-2)	1(1-2,5)	1(0-2)
Status d. Menopause			
Prämenopausal	90 (50%)	6 (29%)	13 (41%)
Postmenopausal	80 (44%)	15 (72%)	15 (47%)
Rauchanamnese			
Raucher	108 (60%)	9 (43%)	12 (38%)
Nichtraucher	53 (29%)	9 (43%)	13 (41%)
PAP-Befund			
IIID	18 (10%)	2 (10%)	0 (0%)
IV	7 (4%)	0 (0%)	1 (3%)
VIN-Klassifikation			
I	14(8%)	-	2(6%)
II	29(16%)	1(5%)	-
III	138(76%)	20(95%)	30(94%)

1. Therapie am LKH-Univ.			
Klinikum Graz	93(51%)	8(38%)	17(53%)
Laser	32(18%)	11(52%)	14(44%)
Exzision	10(6%)	1(5%)	-
Kombination Laser +			-
Exzision	43(24%)	-	-
Imiquimod	3(2%)	1(5%)	1(3%)
Andere <sup>1</sup>			

Daten sind angegeben in Anzahl = n (%), Mittelwert (Standardabweichung), oder Median (Interquartilsabstand). HPV = Humanes Papillomavirus. VIN = *Vulväre intraepitheliale Neoplasie*. d-VIN = differenzierte VIN. PAP-Befund = Befund der Krebsfrüherkennungszytologie

<sup>1</sup> Z.B. keine Therapie, Dermovate, palliative Schmerztherapie, Spontanremission

An der Universitätsfrauenklinik am LKH-Univ. Klinikum Graz wurden in den Jahren 2000-2020 234 Patientinnen therapiert, 51% (n=118) dieser Patientinnen wurden mittels Laser behandelt, 24% (n=57) erhielten eine Exzision, 18% (n=43) eine Therapie mit Imiquimod, 5% (n=11) erhielten eine Kombinationstherapie aus Exzision und Laserbehandlung und weitere 2% (n=5) erhielten eine anderwärtige Therapie [palliative Schmerztherapie (n=1), k.A. (n=1), Dermovate Creme (n=1), Spontanremission (n=1), keine Therapie (n=1)].

Da die Wahl des Therapieverfahrens von der histologischen Art der VIN abhängt, wurden diese in der Auswertung getrennt betrachtet und bewertet. Es zeigt sich, dass HPV-assoziierte VIN in 51% (n=93) mit Laser behandelt wurden, gefolgt von Imiquimod (24%; n=43). In 18% (n=32) erfolgte eine Exzision der Läsion und in 6% (n=10) eine Kombinationstherapie aus Lasertherapie und Exzision der Läsion.

Die differenzierten VIN wurden wiederum in 52% (n=11) mittels Exzision behandelt, 38% (n=8) erhielten eine Lasertherapie und in 5% (n=1) wurde eine Kombinationstherapie aus Laser und Exzision oder die Anwendung von Dermovate Creme (Kortisonpräparat) durchgeführt.

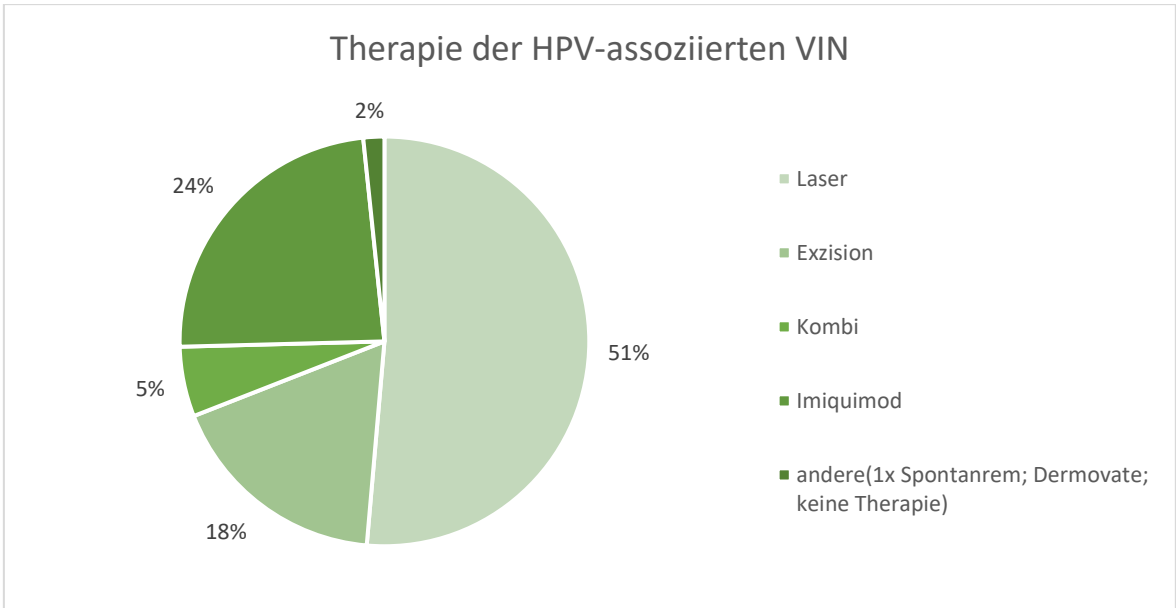


Abbildung 3: Therapiemethode HPV-assoziierte VIN

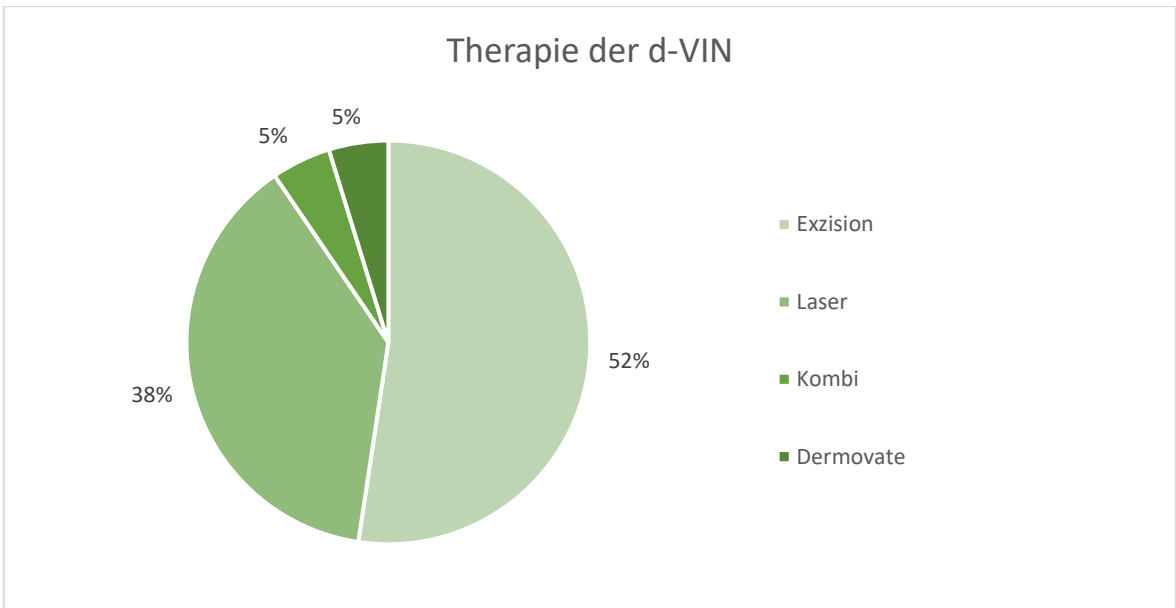


Abbildung 4: Therapiemethode d-VIN

Nach erfolgter Therapie stellte sich bei 50% (n=118) der Patientinnen eine Rezidivfreiheit ein, 33% (n=78) hatten zumindest ein Rezidiv und bei 16% (n=38) der Patientinnen konnte „keine Angabe“ bezüglich eines Rezidivereignisses in den dokumentierten Unterlagen und Arztbriefen gefunden werden.

Von 78 Patientinnen mit einem positiven Rezidivereignis hatten 50 Frauen ein Rezidiv, 15 zwei Rezidive, 10 drei Rezidive und drei Frauen hatten mehr als drei

Rezidive. Das beobachtete Maximum an Rezidiven einer Patientin waren neun Rezidive. Dieser Umstand trat bei zwei Patientinnen auf, eine davon in der HPV-assoziierten Gruppe, die andere in der d-VIN Gruppe, wobei die Patientin mit der HPV-assoziierten Läsion eine immunsupprimierende Therapie erhielt.

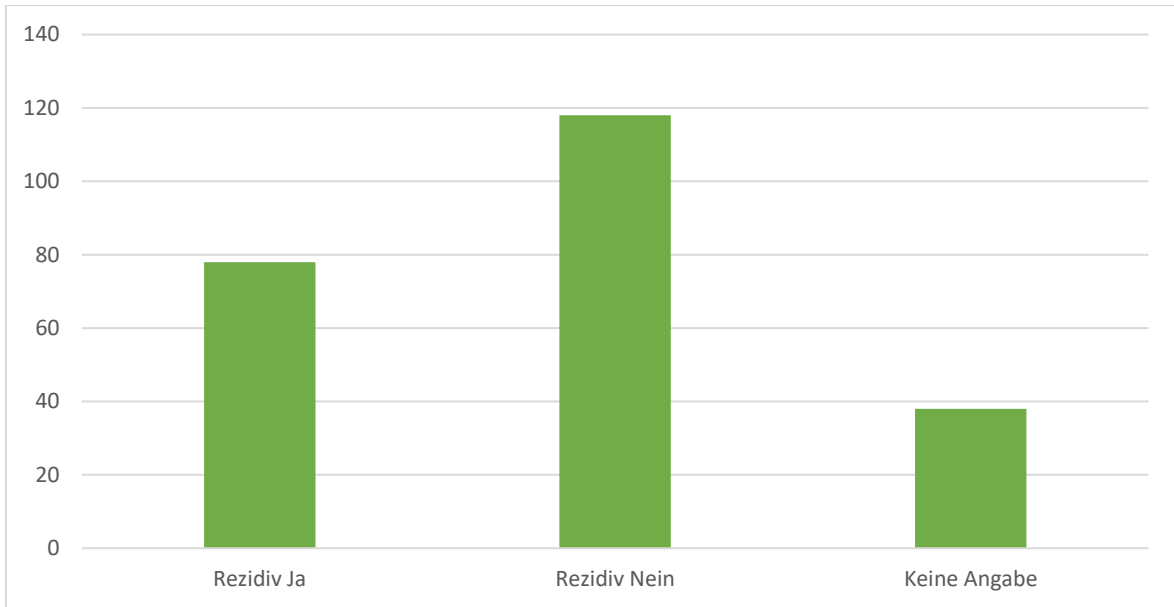


Abbildung 5: Erhebung Rezidivvorkommen

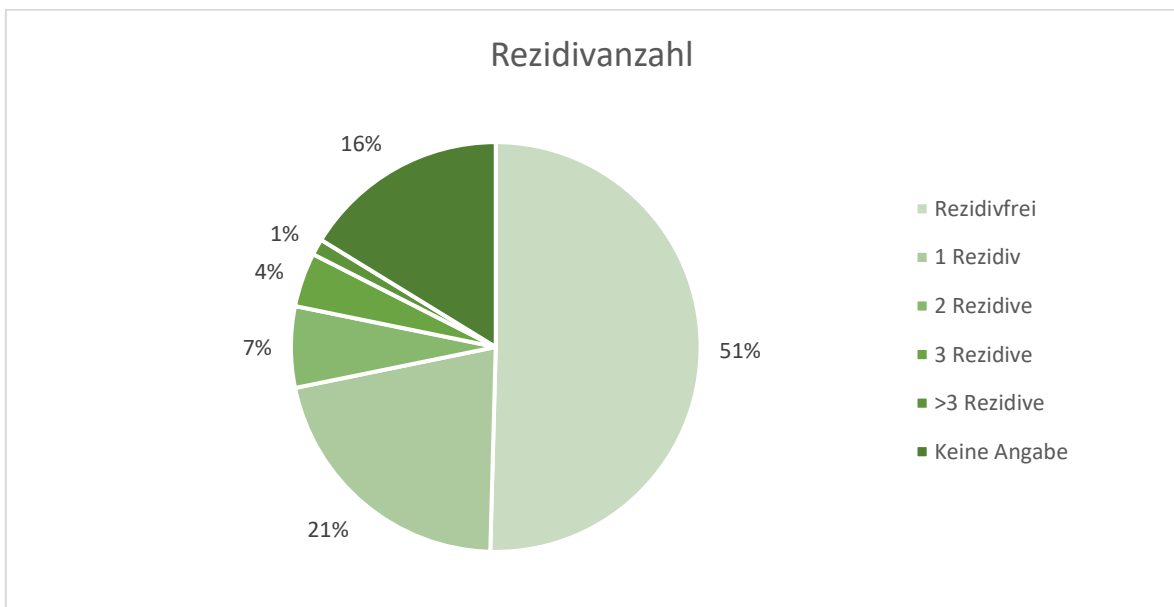


Abbildung 6: Rezidivanzahl

Betrachtet man die Rezidivhäufigkeit nach histologischem Typ der VIN, so ergibt sich ein ähnliches Ergebnis für die HPV-assoziierte und die d-VIN-Gruppe. So hatten 35% (n=64) bzw. 38% (n=8) mindestens ein Rezidiv in der Anamnese.

Die Analyse bis zum Auftreten des 1. Rezidivs zeigt jedoch folgende Unterschiede: In der HPV-assoziierten VIN-Gruppe trat ein Rezidiv im Median nach 8,5 Monaten auf, in der d-VIN-Gruppe erst nach 19 Monaten.

In der HPV-assoziierten Gruppe hatten 38% (n=35/93) ein Rezidiv nach Lasertherapie, ähnlich häufig war die Rezidivhäufigkeit nach kombinierter Laser- und Exzisionstherapie mit 30% (n=3/10). Mit Abstand am häufigsten trat eine Persistenz bzw. ein Wiederauftreten einer VIN in der mit Imiquimod behandelten Gruppe auf, hier hatten 51% (n=22/43) eine Befundpersistenz bzw. ein Rezidivereignis nach einmaliger Therapie. Die geringste Rezidivhäufigkeit trat nach Exzisionstherapie auf, hier hatten nur 9% (n=3/32) ein Rezidivereignis.

In der d-VIN-Gruppe kam es nach der Laserbehandlung ebenfalls bei 38% (n=3/8) der Patientinnen zu einem Rezidiv. Nach Exzision kam es jedoch bei 45% (n=5/11) zu einem Rezidiv nach Erstbehandlung, was deutlich über der Vergleichsgruppe liegt.

*Tabelle 4: Rezidivverhalten der Studienpopulation*

	<b>HPV-assoziierte VIN (SIL) (n=181)</b>	<b>d-VIN (n=21)</b>	<b>Ohne sichere Zuordnung (n=32)</b>
<b>Rezidiv</b>			
ja	64(35%)	8(38%)	6(19%)
nein	86(48%)	12(57%)	20(63%)
keine Angabe	31(17%)	1(5%)	6(19%)
<b>Zeit bis zum 1. Rezidiv in Monaten</b>	8,5(5-19)	19(9-42)	12(6-29)
<b>Rezidiv nach 1. Therapie</b>			
Laser	35/93(38%)	3/8(38%)	2/17(12%)
Exzision	3/32(9%)	5/11(45%)	4/14(29%)
	3/10(30%)	0/1(0%)	-

Kombination Laser +

Exzision 22/43(51%) - -

Imiquimod

Daten sind angegeben in Anzahl = n (%), Mittelwert (Standardabweichung), oder Median (Interquartilsabstand). HPV = Humanes Papillomavirus. VIN = *Vulväre intraepitheliale Neoplasie*. d-VIN = differenzierte VIN.

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Die monozentrische, retrospektive Datenanalyse der Jahre 2000-2020 ergab, dass bei 33% (n=78) der am Universitätsklinikum Graz konservativ oder chirurgisch behandelten Frauen ein Rezidivereignis eingetreten ist. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit früheren Studien von Satmary, Wallbillich und Fehr, welche über eine Rezidivrate von 26%, 29% und 30% nach erfolgter Behandlung berichten (57-59). Aus der vorliegenden Studie geht hervor, dass die meisten dokumentierten VIN-Fälle mit einer HPV-Infektion zusammenhängen (77 % der Fälle) und lediglich 9% als HPV-negativ deklariert wurden. Die Rezidivrate war bei HPV-assoziierten VIN mit 35% vergleichbar mit der Rate bei d-VIN (38%).

Die ausgewerteten Ergebnisse der retrospektiven Datenanalyse bezüglich der prozentualen Verteilung decken sich mit der aktuellen Literatur, wobei 2-10% aller erfassten VIN-Fälle einer d-VIN zuzuordnen sind (9-11).

Die Erhebung der HPV-Assoziation war jedoch in den Jahren 2000-2010 nur bedingt möglich und führt somit zu einer Limitierung der Aussagekraft. Grund dafür könnte die durchgeführte Namensänderung 2004 und die damit verbundene Umstellungsphase der Nomenklatur sein, wie im Artikel von Reich, O. et al. beschrieben (60).

Die Analyse des Zusammenhangs zwischen der angewandten Therapiemethode und dem Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit vom histologischen Typ ergab folgende Kausalitäten:

Die Lasertherapie wird als ein Verfahren beschrieben, das eine maximale Erhaltung des Vulvagewebes und seiner Funktion gewährleistet und gleichzeitig gute Ergebnisse bei der Eradikation der VIN zeigt (51, 52). In unserer retrospektiven Studie wurden von 181 HPV-assoziierten VIN 93 mittels Lasertherapie behandelt. In 38% (n=35) trat mindestens ein Rezidivereignis bis 12/2020 ein. Auch bei den 21 d-VIN Patientinnen, welche mit Laser behandelt wurden, trat in 38% (n=3) ein Rezidivereignis ein. Diese Ergebnisse decken sich mit den Studienergebnissen anderer Studien welche ein Rezidivaufreten in 23-40% nach Lasertherapie

beschreiben, wobei sich unsere Ergebnisse im hinteren Spektrum der Skala einreihen (55, 57, 61).

Die Exzision ist nach wie vor die Therapie der Wahl bei VIN, da hierbei das gesamte makroskopisch dysplastische Gewebe entfernt und histologisch untersucht wird. Dies ermöglicht die frühzeitige Diagnose möglicher Gewebeinvasionen und damit die frühzeitige Verhinderung einer malignen Progression. Laut Studien korreliert die Rezidivrate stark mit dem Grad der Resektion, sie liegt bei 15-17% nach R0-Resektion und bei 46-50%, wenn die Läsion nicht in toto reseziert werden konnte (55, 57, 61). Unsere Studiendaten zeigen, dass in der HPV-assoziierten-Gruppe bei 9% (n=3) und in der d-VIN-Gruppe bei 45% (n=5) ein Rezidiv nach Exzision auftrat. Da jedoch keine Erfassung der Resektionsränder erfolgte, kann hierzu keine Aussage getroffen werden.

Bei 11 Patientinnen wurde eine Kombination der oben genannten Therapiemethoden durchgeführt. Diese ergaben eine Rezidivrate von 30% (n=3) in der HPV-assoziierten-Gruppe und 0% (n=0) in der d-VIN-Gruppe.

Eine weitere etablierte Behandlungsmethode ist die topische Therapie mit Imiquimod. Imiquimod ist ein immunmodulierendes Medikament, das topisch auf die Vulva aufgetragen wird und eine lokale Immunreaktion im Anwendungsgebiet hervorruft. Bezüglich der Rezidivrate berichten Wallbillich et al. von einer Langzeitrezidivrate von 3% und Terlou et al. von 9% nach Imiquimod-Therapie (55, 58). Das Ansprechen auf Imiquimod innerhalb von 6 Monaten variierte in den Vergleichsstudien von Van Seters et al., Tristram et al., Trutnovsky et al., wobei die vollständige klinische Ansprechrate zwischen 35-80% lag (56, 62, 63). Dadurch ergeben sich Persistenzraten von 20-65% nach lokaler Applikation von Imiquimod. Die Datenanalyse unserer Studie ergab eine Persistenzrate von 51%, wobei 22 der Patientinnen nach erfolgter Imiquimod-Therapie eine HPV-assoziierte Läsion aufwiesen.

Da die Erfolgsrate der Imiquimod-Therapie signifikant von der Applikation und der Compliance der Patientinnen abhängt und in unserer Studie keine kontrollierten Studienbedingungen vorlagen, wäre hier zu hinterfragen, bei wie vielen Patientinnen die Applikation der Lokaltherapie protokollgemäß (bis zu dreimal pro Woche) durchgeführt wurde.

Da lediglich 1% der Patientinnen mit anderen Therapiemethoden [palliative Schmerztherapie (n=1), k.A. (n=1), Dermovate Creme (n=1), Spontanremission

(n=1), keine Therapie (n=1)] therapiert wurden, wurde von einer statistischen Analyse hinsichtlich des Rezidivverhaltens aufgrund angenommener mangelnder Aussagekraft Abstand genommen.

Die mittlere Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs betrug 20,6 Monate, in einer Vergleichsstudie von Satmary et al. traten die Rezidive im Mittel bereits nach 16,9 Monaten auf (57).

Bezüglich des Altersdurchschnitt ergab die retrospektive Studie ein mittleres Alter zum Diagnosezeitpunkt von 49 Jahren, welches der Altersverteilung der HPV-assoziierten und HPV-unabhängigen VIN entspricht (siehe Tabelle 2). 30% der Patientinnen waren jünger oder gleich 40 Jahre alt. Das mittlere Diagnosealter lag auch in Vergleichsstudien bei 47 Jahren (Wallbillich et al.), 45 Jahren (Hillemanns et al.), 48 Jahre (Terlou et al.) und 53 Jahren (Trutnovsky et al.) (55, 56, 58, 61).

Im Zuge der Analyse wurde auch der Faktor Nikotinkonsum erhoben und interpretiert. Von 234 Frauen rauchte knapp die Hälfte (55%, n=129). Im Hinblick auf ein Rezidivgeschehen zeigte sich, dass 32,6% (n=42) der Raucherinnen ein dokumentiertes Rezidiv hatten. Der Nikotinkonsum gilt als ein dokumentierter Risikofaktor für die Entstehung einer VIN, in der durchgeführten Datenanalyse konnte das Rauchen jedoch nicht als Risikofaktor für die Entwicklung eines Rezidivs angesehen werden ähnlich wie in der Studie von Satmary et al.. Diese ergab, dass bei 222 vermerkten Raucherinnen in 31%(n=99) ein Rezidiv auftrat (57). In der Studie von Trutnovsky et al. wurde ebenfalls keine Assoziation zwischen Rauchen und klinischem Ansprechen gefunden. Der Einfluss des Rauchens auf das Wiederauftreten von vHSIL nach chirurgischer Behandlung gilt ebenfalls als unklar (56).

## **4.2 Stärken und Schwächen der Studie**

Da aufgrund des gewählten Studiendesigns kein Einfluss auf die Quantität und Qualität der Daten genommen werden konnte, ergaben sich verschiedene Einschränkungen bei der Datenerhebung. So musste ich zu Beginn der Datenrecherche feststellen, dass die digitale Dokumentation und der Informationsgehalt der Arztbriefe in den Jahren 2000-2010 äußerst lückenhaft bzw. kurz gehalten waren. Daher war die Erfassung der von mir vorgegebenen

Parameter in diesen Jahren nicht zufriedenstellend und die entsprechenden Tabellenfelder mussten häufig mit „keine Angabe“ ausgefüllt werden. Vor allem hinsichtlich des histologischen Klassifizierungsgrades wurden diese Umstände deutlich, so lagen hier 91% der „keine Angabe“ Angaben im Zeitraum vor 2010. Diese Gegebenheiten besserten sich um die Jahrzehntwende merkbar, wodurch die Datenrecherche erleichtert wurde.

Ein weiterer limitierender Faktor stellte die erfolgte Namensänderung der Erkrankung im Jahre 2014 dar, wobei HPV-assoziierte VIN wiederum in LSIL und HSIL unterteilt und diese Änderung uneinheitlich von den Ärzten und Ärztinnen verwendet wurde.

Die Erhebung der Läsionsgröße stellte sich ebenso als Herausforderung dar, da in diversen Arztbriefen anstatt von metrischen Einheiten (mm, cm) die Verwendung von Nahrungsmittelgrößen (gewürzkerngroß, linsengroß, kirschkerngroß etc.) gebräuchlich war. Diese Umstände erschwerten das Beschreiben und Vergleichen der Läsionsgrößen maßgeblich, weshalb schlussendlich auch von einer Interpretation dieser Abstand genommen wurde.

### **4.3 Conclusio**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse dieser retrospektiven Datenanalyse mit den Ergebnissen bestehender Vergleichsstudien übereinstimmen und die Häufigkeitsverteilungen der Ergebnisse ähnlich denen des internationalen Vergleichs sind. Dies deutet darauf hin, dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie für die zugrunde liegende Population repräsentativ sind und die Ergebnisse auf ähnliche Kontexte übertragen werden können.

Die Persistenzrate der mit Imiquimod therapierten Patientinnen liegt mit 51% im Vergleich zu anderen Studien im höheren Bereich. Hier wäre zu hinterfragen, bei wie vielen Patientinnen die Applikation der Lokalthherapie protokollgemäß durchgeführt wurde, da die Erfolgsrate der Imiquimod-Therapie signifikant von der Compliance der Patientinnen abhängt und aufgrund der Retrospektivität keine kontrollierten Studienbedingungen vorlagen.

Die vorliegenden Daten der retrospektiven Analyse bestätigen jedoch die hohen Rezidivraten bei d-VIN und HPV-assoziierten VIN und unterstreichen die klinische Relevanz regelmäßiger Kontrolluntersuchungen nach der Behandlung von VIN.

Im Vergleich zu anderen Studien ist die Fallzahl mit 234 Fällen zwar begrenzt, die erhobenen Parameter und aufgestellten Hypothesen können jedoch als Grundlage für zukünftige Studien dienen. Denn gerade der Einfluss des gewählten Therapieverfahrens, in Abhängigkeit vom histologischen Typ, auf die Gesamtprognose ist von großer therapeutischer Bedeutung.

Aufgrund der Monozentrität und der geringen Fallzahl dieser retrospektiven Analyse können die Ergebnisse jedoch nicht als repräsentativ für die Steiermark und Österreich angesehen werden.

Ich persönlich bin der Meinung, dass gerade der medizinische Fortschritt in seiner präventiven Entwicklung und Auswirkung die zukünftige Generation von Ärzten und Ärztinnen begleiten wird. Man darf also gespannt sein, welche Auswirkungen die steigende HPV-Durchimpfungsrate auf die österreichische Bevölkerung haben wird. Meiner Meinung nach liegt in der Analyse, Therapie und Prävention der *Vulvären intraepithelialen Neoplasie* ein enormes wissenschaftliches Potential und die Beschäftigung damit wird auch in Zukunft einen hohen Stellenwert in der Gynäkologie einnehmen.

## Literaturverzeichnis

1. Fritsch H, Kühnel W. Äußere Geschlechtsorgane. In: Fritsch H, Kühnel W, editors. Taschenatlas Anatomie, Band 2: Innere Organe. 12th ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2018. p. 298-9.
2. Schulte E. Äußere weibliche Genitalorgane. In: Aumüller G, Aust G, Conrad A, Engele J, Kirsch J, Maio G, et al., editors. Duale Reihe Anatomie. 5th ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2020. p. 807-9.
3. Anderhuber F, Filler TJ, Pera F, Peuker ET. Äußere weibliche Geschlechtsorgane, Pudendum femininum (Vulva, Cunnus). In: Anderhuber F, Pera F, Streicher J, editors. Waldeyer Anatomie des Menschen: Lehrbuch und Atlas in einem Band. 19th ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2012. p. 677-80.
4. Drenckhahn D, Waschke J. Harn- und Genitalsystem: Weibliche Geschlechtsorgane. In: Benninghoff, Drenckhahn, editors. Taschenbuch Anatomie. 3rd ed. München: Elsevier; 2020. p. 307-9.
5. Bergauer F, Maaßen V, Pietschmann D. Benigne und maligne Veränderungen der weiblichen Geschlechtsorgane. In: Weyerstahl T, Stauber M, editors. Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. 4th ed: Georg Thieme Verlag; 2013. p. 212-5.
6. Costa SD. Vulva. In: Kaufmann M, Costa SD, Scharl A, editors. Die Gynäkologie. 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2013. p. 415-28.
7. Kaufmann M, Pfeleiderer A. Maligne Veränderungen der Vulva. In: Breckwoldt M, Gätje R, Karck U, Kaufmann M, Keck C, Pfeleiderer A, et al., editors. Gynäkologie und Geburtshilfe. 5th ed: Georg Thieme Verlag; 2008. p. 165-7.
8. Höhn AK, Brambs CE, Hiller GGR, May D, Schmoeckel E, Horn L-C. WHO-Klassifikation 2020 für Tumoren des unteren weiblichen Genitales. GebFra. 2021;81(10):1145-53.
9. Preti M, Scurry J, Marchitelli CE, Micheletti L. Vulvar intraepithelial neoplasia. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2014;28:1051-62.
10. Kokka F, Singh N, Faruqi A, et al. Is differentiated vulval intraepithelial neoplasia the precursor lesion of human papillomavirus-negative vulval squamous cell carcinoma? Int J Gynecol Cancer. 2011;21:1297-305.
11. van den Einden L, de Hullu J, Massuger L, et al. Interobserver variability and the effect of education in the histopathological diagnosis of differentiated vulvar intraepithelial neoplasia. Mod Pathol. 2013;26:874-80.
12. Del Pino M, Rodriguez-Carunchio L, Ordi J. Pathways of vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. Histopathology. 2013;62:161-75.
13. Yang B, Hart WR. Vulvar intraepithelial neoplasia of the simplex (differentiated) type: a clinicopathologic study including analysis of HPV and p53 expression. Am J Surg Pathol. 2000;24:429-41.
14. Rolfe KJ, MacLean AB, Crow JC, et al. TP53 mutations in vulval lichen sclerosis adjacent to squamous cell carcinoma of the vulva. Br J Cancer. 2003;89:2249-53.
15. Pinto AP, Miron A, Yassin Y, et al. Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia contains Tp53 mutations and is genetically linked to vulval squamous cell carcinoma. Mod Pathol. 2010:404-12.
16. Ueda Y, Enomoto T, Kimura T, et al. Two distinct pathways to development of squamous cell carcinoma of the vulva. J Skin Cancer. 2011;2011:951250.

17. Guerrero D, Guarch R, Ojer A, et al. Differential hypermethylation of genes in vulvar cancer and lichen sclerosus coexisting or not with vulvar cancer. *Int J Cancer*. 2011;128:2853-64.
18. Aidé S, Lattario FR, Almeida G, et al. Promoter hypermethylation of death-associated protein kinase and p16 genes in vulvar lichen sclerosus. *J Low Genit Tract Dis*. 2012;16:133-9.
19. van Esch EM, Welters MJ, Jordanova ES, et al. Treatment failure in patients with HPV 16-induced vulvar intraepithelial neoplasia: understanding differenz clinical responses to immunotherapy. *Expert Rev Vaccines*. 2012;11(7):821-40.
20. van der Avoort IA, Shirango H, Hoevenaars BM, et al. Vulvar squamous cell carcinoma is a multifactorial disease following two separate and independent pathways. *Int J Gynecol Pathol*. 2006;25:22-9.
21. Hoevenaars BM, van der Avoort IA, de Wilde PC, et al. A panel of p16(INK4A), MIB1 and p53 proteins can distinguish between the 2 pathways leading to vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2008;123(12):2767-73.
22. Ohtani N, Yamakoshi K, Takahashi A, et al. The p16INK4a-RB pathway: molecular link between cellular senescence and tumor suppression. *J Med Invest*. 2004;51:146-53.
23. Rufforny I, Wilkinson EJ, Liu C, et al. Human papillomavirus infection and p16(INK4a) protein expression in vulvar intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Low Genit Tract Dis*. 2005;9:108-13.
24. Santegoets LA, van Baars R, Terlou A, et al. Different DNA damage and cell cycle checkpoint control in low- and high-risk human papillomavirus infections of the vulva. *Int J Cancer*. 2012;130:2874-85.
25. Tavassoli FA, Devilee P. IARC WHO classification of tumours. No 4. WHO Press. 2003.
26. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, et al. LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136:1266-97.
27. Joura EA, Löscher A, Haider-Angeler M-G, Breitenacker G, Leodolter S. Trends in Vulvar Neoplasia. Increasing Incidence of Vulvar Intraepithelial Neoplasia and Squamous Cell Carcinoma of the Vulva in Young Women. *The Journal of Reproductive Medicine*. 2000;45(8):613-5.
28. Bosch F, Lorincz A, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55:244-65.
29. Clifford G, Smith J, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2003;88:63-73.
30. Fernandes J, Galvão de Araújo J, de Medeiros Fernandes T. Biology and natural history of human papillomavirus infection. *Open Access Journal of Clinical Trials*. 2013;5:1-12.
31. Gravitt P, Peyton C, Alessi T, Wheeler C, Coutlee F, Hildesheim A, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol*. 2000;38:357-61.
32. Scharl A, Göhring U-J. HPV-Impfung. In: Kaufmann M, Costa SD, Scharl A, editors. *Die Gynäkologie*. 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2013. p. 365-76.

33. Joura EA, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *NEJM*. 2015;372:711-23.
34. Bundesministerium für Soziales G, Pflege und Konsumentenschutz,. Impfplan Österreich 2021 Wien: sozialministerium.at; 2021 [Available from: [https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:b798c451-9f36-4385-b7a6-f29af72830c1/210128\\_Impfplan\\_%C3%96sterreich\\_2021\\_pdfUA.pdf](https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:b798c451-9f36-4385-b7a6-f29af72830c1/210128_Impfplan_%C3%96sterreich_2021_pdfUA.pdf)].
35. Castellsague X, et al. Immunogenicity and safety of the 9-valent HPV vaccine in men. *Vaccine*. 2015;33:6892-901.
36. Kirnbauer R, al. e. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particels that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci*. 1992;89(24):12180-4.
37. Ali H, et al. Genital warts in young Australians five years into national human papillomavirus vaccination programme: national surveillance data. *BMJ*. 2013;346:f2032.
38. Arbyn M, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ*. 2008;337:a1284.
39. Brotherton J, et al. Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: an ecological study. *Lancet*. 2011;377:2085-92.
40. Castellsague X, et al. End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24–45 years of age. *Br J Cancer*. 2011;105:28-37.
41. Ghelardi, et al. SPERANZA project: HPV vaccination after treatment for CIN2+. *Gynecol Oncol*. 2018;151:229-34.
42. Markowitz L, et al. Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 2014;63(RR-05):1-30.
43. Preti M, Van Seters M, Sideri M, et al. Squamous vulvar intraepithelial neoplasia. *Clin Obstet Gynecol*. 2005;48:845-61.
44. Pepas L, Kaushik S, Bryant A, et al. Medical interventions for high grade vulvar intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2011(4):CD007924.
45. Committee on Gynecologic Practice of American College Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion No. 509: management of vulvar intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol*. 2011;118:1192-4.
46. Jones R, Rowan D, Stewart A. Vulvar intraepithelial neoplasia: aspects of the natural history and outcome in 405 women. *Obstet Gynecol*. 2005;106:1319-26.
47. Nugent E, Brooks R, Barr C, et al. Clinical and pathologic features of vulvar intraepithelial neoplasia in premenopausal and postmenopausal women. *J Low Genit Tract Dis*. 2011;15:15-90.
48. Van Seters M, Van Beurden M, de Craen A. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecologic Oncology*. 2005;97:645-51.
49. Ioffe Y, Erickson B, Foster K, et al. Low yield of residual vulvar carcinoma and dysplasia upon re-excision for close or positive margins. *Gynecologic Oncology*. 2013;129:528-32.

50. Lockhart J, Gray N, Cruickshank M. The development and evaluation of a questionnaire to assess the impact of vulvar intraepithelial neoplasia: a questionnaire study. *BJOG*. 2013;120:1133-42.
51. Dockery L, Soper J. Vulvar Intraepithelial Neoplasia: A Review of the Disease and Current Management. *Obstetrical & gynecological survey*. 2021;76:55-62.
52. Horowitz I, Joseph Majmudar B. Surgery for Benign Gynecologic Conditions. *Te Linde's Operative Gynecology*. 2011;10:48-570.
53. de Witte C, van de Sande A, van Beekhuizen H, et al. Imiquimod in cervical, vaginal and vulvar intraepithelial neoplasia: a review. *gynecologic Oncology*. 2015;139:377-84.
54. Abdulrahman Z, Kortekaas K, De Vos Van Steenwijk P, et al. The immune microenvironment in vulvar (pre)cancer: review of literature and implications of immunotherapy. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18:1223-33.
55. Terlou A, van Seters M, Ewing P, et al. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with topical imiquimod: seven years median follow-up of a randomized clinical trial. *Gynecologic Oncology*. 2011;121:157-62.
56. Trutnovsky G, Reich O, Joura EA, Holter M, Ciresa-König A, Widschwendter A, et al. Topical imiquimod versus surgery for vulvar intraepithelial neoplasia: a multicentre, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet*. 2022;399(10337):1790-8.
57. Satmary W, Holschneider CH, Brunette LL, Natarajan S. Vulvar intraepithelial neoplasia: Risk factors for recurrence. *Gynecologic Oncology*. 2018;148(1):126-31.
58. Wallbillich J, Rhodes H, Milbourne A, Munsell M, Frumovitz M, Brown J, et al. Vulvar intraepithelial neoplasia (VIN2/3): comparing clinical outcomes and evaluating risk factors for recurrence. *Gynecologic Oncology*. 2012;127(2):312-5.
59. Fehr M, Baumann M, Mueller M, Fink D, Heinzl S, Imesch P, et al. Disease progression and recurrence in women treated for vulvovaginal intraepithelial neoplasia. *Gynecologic Oncology*. 2013;24(3):236-41.
60. Reich O, Regauer S, Marth C, Schmidt D, Horn L-C, Dannecker C, et al. Precancerous Lesions of the Cervix, Vulva and Vagina According to the 2014 WHO Classification of Tumors of the Female Genital Tract. *GebFra*. 2015;75:1-3.
61. Hillemanns P, Wang X, Staehle S, Michels W, Dannecker C. Evaluation of different treatment modalities for vulvar intraepithelial neoplasia (VIN): CO2 laser vaporization, photodynamic therapy, excision and vulvectomy. *Gynecol Oncol*. 2006;100:271-5.
62. Tristram A, Hurt CN, Madden T, Powell N, Man S, Hibbitts S, et al. Activity, safety, and feasibility of cidofovir and imiquimod for treatment of vulvar intraepithelial neoplasia (RT<sup>3</sup>VIN): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):1361-8.
63. van Seters M, van Beurden M, ten Kate FJ, Beckmann I, Ewing PC, Eijkemans MJ, et al. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with topical imiquimod. *N Engl J Med*. 2008;358(14):1465-73.