

Diplomarbeit

**Verwendung von zytologischer p16/Ki67 Färbung im
Management von auffälligen PAP-Abstrichen in der
Schwangerschaft**

eingereicht von

Anna Maria Fischer

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Drⁱⁿ. 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. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Gerda Trutnovsky

FÄ Dr.med.univ. Taja Bračič

Graz, 11.04.2025

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.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, am 11.04.2025

Anna Maria Fischer eh.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinen Betreuerinnen, Frau Dr. Trutnovsky und Frau Dr. Bračič, meinen tiefen Dank aussprechen. Ihre fachkundige Begleitung, ihre wertvollen Anregungen, ihr offenes Ohr für Rückfragen und ihre Geduld haben den gesamten Verlauf dieser Arbeit entscheidend geprägt. Vielen Dank für eure Zeit, Unterstützung und euer Engagement!

Meiner Familie gebührt ebenfalls mein aufrichtiger Dank. Ihre uneingeschränkte Unterstützung – angefangen bei den kleinsten Alltagsdingen bis hin zu den großen Entscheidungen in meinem Leben – hat es mir ermöglicht, mich voll und ganz meinem Studium zu widmen. Ohne ihre Rückendeckung und liebevolle Ermutigung wäre es mir nicht gelungen, meine Ziele so konsequent zu verfolgen. Sie haben mich seit meiner Kindheit darin bestärkt alles erreichen zu können, was ich mir vornehme. Ihre bedingungslose Unterstützung und ihr Vertrauen haben mich durch alle Höhen und Tiefen des Studiums getragen. Ich danke euch von Herzen!

Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele: Zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) stellen bei schwangeren Patientinnen eine besondere diagnostische Herausforderung dar. Graviditätsbedingte hormonelle und immunologische Umstellungen führen zu physiologischen Veränderungen der Zervix. Dies kann die Interpretation der diagnostischen Methoden und die Einschätzung der Dysplasien erschweren. Ein Test zur Ermöglichung der Vorhersage des postpartalen Verlaufs eines auffälligen zervikalen Befundes in der Schwangerschaft ist daher von Interesse. Die p16/Ki-67-Dualfärbung (CINtec[®] PLUS) hat sich bereits als valider Marker erwiesen, um hochgradige (HSIL) von niedriggradigen (LSIL) Veränderungen bei nicht-schwangeren Frauen abzugrenzen.

Obwohl der Titel der Arbeit ursprünglich das Management von Frauen mit auffälligem PAP-Abstrich in der Schwangerschaft erwähnt, fokussiert sich diese Studie auf die Frage, ob die p16/Ki-67-Dualfärbung in der Schwangerschaft den postpartalen Verlauf (Regression, Persistenz, Progression) eines präpartal auffälligen Zervixbefundes verlässlich vorhersagen kann. Darüber hinaus sollte geklärt werden, ob bei auffälligem zervikalen Befund präpartal eine Dual-Staining-Positivität in der Schwangerschaft vermehrt mit einem positiven HPV-Status und einer HSIL-Histologie (CIN II+) post partum assoziiert ist.

Methoden: In dieser prospektiven Beobachtungsstudie wurden insgesamt wurden 129 Patientinnen rekrutiert, von denen bei 52 vollständige Befunde vorlagen und somit die Kriterien für eine Zwischenauswertung erfüllt waren. Die Patientinnen waren zwischen 21-43 Jahre und befanden sich zum Zeitpunkt der Färbung im 1. und 2. Trimester. Jede Patientin erhielt präpartal eine standardisierte Diagnostik bestehend aus Zytologie, HPV-Test, Kolposkopie sowie p16/Ki-67-Dualfärbung. Postpartal erfolgte die histologische Abklärung mittels Biopsie, um hoch- von niedriggradigen beziehungsweise unauffälligen Befunden zu unterscheiden. Semiquantitativ ausgewertete „fraglich“ bis „hochgradig“ positive Färbungen galten als positiver Dual-Staining-Befund.

Die Ergebnisse wurden mit dem postpartalen Verlauf (Regression/Persistenz/Progression) und der histologischen Aufarbeitung (LSIL/HSIL) korreliert.

Ergebnisse: Die Hälfte der Patientinnen zeigte präpartal einen positiven CINtec[®] PLUS Befund. Während die Studie einen leichten Trend hin zu häufigerer Persistenz des präpartalen Befundes bei positiv getesteten erkennen ließ, war die Progressionsrate zu höhergradigen

Läsionen in beiden Gruppen identisch. Insgesamt erwiesen sich Sensitivität und Spezifität der Färbung in der Schwangerschaft zur Vorhersage des postpartalen Verlaufs, des postpartalen HPV-Status oder der postpartalen Detektion von HSIL als eingeschränkt (etwa 50–60 %). Diese Korrelationen zeigten keine statistische Signifikanz. Der Einfluss weiterer Variablen wie Geburtsmodus oder Parität zeigte im Rahmen statistischer Testung ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

Schlussfolgerung: Die erste Zwischenauswertung der Studiendaten deutet darauf hin, dass sich der postpartale klinische Verlauf (Regression, Persistenz, Progression) von auffälligen Befunden der Zervix bei Schwangeren nur fraglich durch p16/Ki-67-Dualfärbung in der Schwangerschaft vorhersagen lässt. Die prognostische Aussagekraft des Dual-Stainings in der Schwangerschaft ist auch hinsichtlich der Detektion von HSIL-Histologien oder der Vorhersage des HPV-Status post partum bei auffälligen Zervixbefunden Schwangerer nur begrenzt gegeben. Die bei schwangeren Patientinnen beobachteten Werte für Sensitivität und Spezifität der Methode zur Prädiktion des Verlaufs bei CIN lagen unter jenen, die in Studien mit nicht schwangeren Kollektiven berichtet wurden.

Es wird erwartet, dass die finale Auswertung der gesamten Studiendaten mit höheren Fallzahlen weiterführende Erkenntnisse zum Potenzial der Dualfärbung als Prognosemethode für die postpartale Entwicklung zervikaler Dysplasien liefern kann. Langfristig könnten diese Ergebnisse dazu beitragen, das Management auffälliger Zervixbefunde in der Schwangerschaft gezielter zu gestalten.

Abstract

Background and Objectives: Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) presents a diagnostic challenge in pregnant patients. Pregnancy-associated hormonal and immunological changes induce physiological alterations of the cervix, which can complicate the interpretation of diagnostic procedures and the assessment of dysplastic lesions. A test that allows prediction of the postpartum course of an abnormal cervical finding is therefore of clinical interest. The p16/Ki-67 dual staining test (CINtec[®] PLUS) has already proven to be a valid marker for distinguishing high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) from low-grade lesions (LSIL) in non-pregnant women.

Although the title of the thesis originally refers to the management of women with abnormal Pap smears during pregnancy, this study focuses on whether p16/Ki-67 dual staining during pregnancy can reliably predict the postpartum course (regression, persistence, progression) of a previously abnormal cervical finding. In addition, the study aimed to determine whether dual staining positivity during pregnancy is more frequently associated with a positive HPV status and a postpartum HSIL histology (CIN II+) in cases with abnormal cervical findings in pregnant women.

Methods: In this prospective observational study, a total of 129 patients were recruited, of whom 52 had complete data and thus met the criteria for interim analysis. Patients were aged between 21 and 43 years and underwent dual staining during the first or second trimester. Each patient received a standardized prepartum diagnostic workup including cytology, HPV testing, colposcopy, and p16/Ki-67 dual staining. Postpartum, histological clarification was performed via biopsy to distinguish between high-grade, low-grade, and normal findings. Dual staining results categorized semiquantitatively as “questionably” to “strongly positive” were considered positive.

Results: Half of the patients showed a positive CINtec[®] PLUS result prior to delivery. While the study revealed a slight trend toward a higher rate of persistent cervical findings in dual staining–positive patients, the progression rates to higher-grade lesions were identical in both groups. Overall, the sensitivity and specificity of the test in predicting postpartum course, HPV status, or HSIL detection were limited (approximately 50–60%). None of these correlations reached statistical significance. Other variables, such as mode of delivery or parity, also showed no statistically significant differences.

Conclusion: This preliminary analysis suggests that the clinical course (regression, persistence, progression) postpartum of abnormal cervical findings of pregnant women can only be predicted to a limited extent by p16/Ki-67 dual staining in pregnancy. The prognostic value of the dual stain test in pregnancy also appears limited with respect to predicting postpartum HSIL histology or HPV status in women with abnormal prepartum cervical findings. Sensitivity and specificity for the prediction of the clinical course of CIN observed in pregnant patients were lower than those reported in studies of non-pregnant populations.

It is expected that the final evaluation of the complete dataset, including a larger number of cases, will provide further insights into the potential of dual staining as a predictive tool for postpartum cervical dysplasia outcomes. In the long term, these findings may contribute to a more targeted approach in the management of abnormal cervical findings during pregnancy.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	i
Danksagung	ii
Zusammenfassung	iii
Abstract	v
Abkürzungsverzeichnis	ix
Abbildungsverzeichnis	xi
Tabellenverzeichnis	xii
1 Einleitung	1
1.1 Physiologie der Zervix uteri	1
1.1.1 Die Transformationszone	1
1.1.2 Veränderungen in der Schwangerschaft.....	2
1.2 Maligne Entartung der Zervix	3
1.2.1 Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN)	3
1.2.2 Das invasive Zervixkarzinom.....	5
1.2.3 Dysplasien in der Schwangerschaft.....	5
1.3 Ätiologie und Prävention zervikaler Dysplasien.....	6
1.3.1 Ätiologie.....	6
1.3.2 Die HPV-Impfung	8
1.4 Diagnostik in der Schwangerschaft.....	8
1.4.1 Zytologie	8
1.4.2 Kolposkopie	10
1.4.3 Histologie	11
1.4.4 HPV-Nachweis	12
1.4.5 p16/Ki-67 Dualfärbung	13
1.6 Psychologischer Aspekt	15
1.7 Hypothesen.....	16
2 Material und Methoden	17
2.1 Rekrutierung und Studienablauf.....	17
2.2 Baselinevisite	18
2.3 Peripartale Visiten	19
2.4 Postpartale Visite.....	20
2.5 Datenmanagement und Datenanalyse	21
3 Ergebnisse	23
3.1 Demografie und klinische Merkmale	23
Vergleich zytologischer, virologischer und histologischer Befunde vor und nach der Geburt zwischen CINtec® PLUS-Gruppen	25
3.2 Demografische und klinische Unterschiede zwischen CINtec® PLUS-Gruppen	27

3.3	Prädiktive Aussagekraft des CINtec® PLUS-Tests	29
4	Diskussion	32
4.1	Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	33
4.1.1	Beantwortung der Hypothesen	33
4.2	Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext	35
4.3	Stärken und Limitationen	39
4.4	Perspektiven und Ausblick	41
4.5	Zusammenfassung	43
5	Literaturverzeichnis	44

Abkürzungsverzeichnis

AIS	Adenocarcinoma in situ
ASC-US	Atypical squamous cells of undetermined significance
ASC-H	Atypical squamous cells, cannot exclude HSIL
BMI	Body Mass Index
CIN	Zervikale intraepitheliale Neoplasie
CIS	Carcinoma in situ
CK	Zervikalkanal
CRF	Case report form
DNA	Desoxyribonucleic acid
FN	False-negative
FP	False-positive
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HPV	Humanes Papillomavirus
hr-HPV	high-risk humane Papillomaviren
HSIL	High grade intraepithelial squamous lesion
IVF	In vitro Fertilisation
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
KI	Künstliche Intelligenz
Ki-67	Kiel Antigen Nr. 67
LSIL	Low grade intraepithelial squamous lesion
NPV	Negative predictive value
ÖGZ	Österreichische Gesellschaft für Zytologie
p16	Protein 16
PAP-Abstrich	Abstrich nach Papanicolau
PPV	Positive predictive value
SENS	Sensitivität
SPEZ	Spezifität
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
SSW	Schwangerschaftswoche
TN	True-negative
TP	True-positive

TZ

Transformationszone

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Altersabhängige Lokalisation der Übergangszone zwischen unverhorntem Plattenepithel und schleimproduzierendem Zylinderepithel: in der Pubertät (a), beim Einsetzen der Geschlechtsreife (b) und in der Postmenopause (c) [2]	2
Abbildung 2: Histologisches Bild der Stadien zervikaler intraepithelialer Neoplasien in HE-Färbung [10].....	4
Abbildung 3: Österreichische Gynäkologische-Zytologie-Nomenklatur 2018 mit Bethesda-Äquivalent [46]	10
Abbildung 4: Links konventioneller PAP-Abstrich, rechts mit positiver CINtec [®] PLUS Färbung [62]	19
Abbildung 5: Überblick über den CINtec [®] -Studienplan.....	21
Abbildung 6: Verteilung des Verlaufs der zervikalen Befundes nach CINtec [®] PLUS-Gruppen	28

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Natürlicher Verlauf von intraepithelialen Neoplasien nach Ostör et al. [14].....	5
Tabelle 2: Demografische Charakteristika der Studienpopulation.....	24
Tabelle 3: Klinische Befunde der Studienpopulation nach CINtec [®] PLUS Ergebnis	26
Tabelle 4: Assoziation von demografischen und klinischen Faktoren mit dem CINtec [®] PLUS- Ergebnis.....	29
Tabelle 5: Prädiktive Aussagekraft von CINtec [®] PLUS unter Verwendung von Verlauf und Histologie	30

1 Einleitung

1.1 Physiologie der Zervix uteri

1.1.1 Die Transformationszone

Als Zervix oder auch Collum uteri wird der kaudalste Anteil des Uterus bezeichnet. Die Zervix besteht aus dem Zervikalkanal (CK), auch Endozervix genannt und dem inneren und äußeren Muttermund. Der innere Muttermund begrenzt den CK nach kranial zur Uterushöhle hin. Der äußere Muttermund mündet in das Vaginalgewölbe und wird daher als Portio vaginalis uteri (kurz Portio) oder als Ektozervix bezeichnet [1].

Die Zervix baut sich aus Epithel und Stroma auf. Das Epithel der Endozervix besteht aus einschichtigem, hochprismatischem Zylinderepithel, welches auf Höhe des äußeren Muttermundes in das mehrschichtig verhornte Plattenepithel der Portio übergeht. Diese Grenze wird auch als Plattenepithel-Zylinderepithel-Grenze bezeichnet und verschiebt sich je nach Lebensalter unter Hormoneinfluss. Vor der Pubertät und in der Menopause befindet sich diese Übergangszone endozervikal, bei Geschlechtsreife unter Östrogeneinfluss kann sie sich bis auf die Portio verlagern [1, 2]. Dann spricht man von einer Ektopie, in diesem Bereich kommt es durch die Ansäuerung der Vagina, mechanische Irritation und bei chronischer Inflammation zur schrittweisen Metaplasie des einschichtigen Zylinderepithels der Endozervix zum mehrschichtig unverhorntem Plattenepithel der Ektozervix. Dieser Bereich epithelialer Metaplasie wird als Transformationszone (TZ) bezeichnet, also der Bereich zwischen ursprünglicher und aktueller Grenzlinie des Platten- und Zylinderepithels. Die ursprüngliche Platten-Zylinder-Epithel-Grenze stellt die Grenze zwischen dem ursprünglichen Plattenepithel und dem metaplastischen Plattenepithel der Transformationszone dar. Die Grenze zwischen dem umgewandelten metaplastischen Plattenepithel der TZ und dem mukösen Zylinderepithel des Gebärmutterhalses wird als neue Grenzlinie bezeichnet [3]. Dies ist in Abbildung 1 veranschaulicht [2].

Die Transformationszone ist durch die Umwandlungs- und Regenerationsvorgänge vulnerabler für onkogene Agenzien wie das HP-Virus und so eine Prädilektionsstelle für neoplastische Entartungen [4].

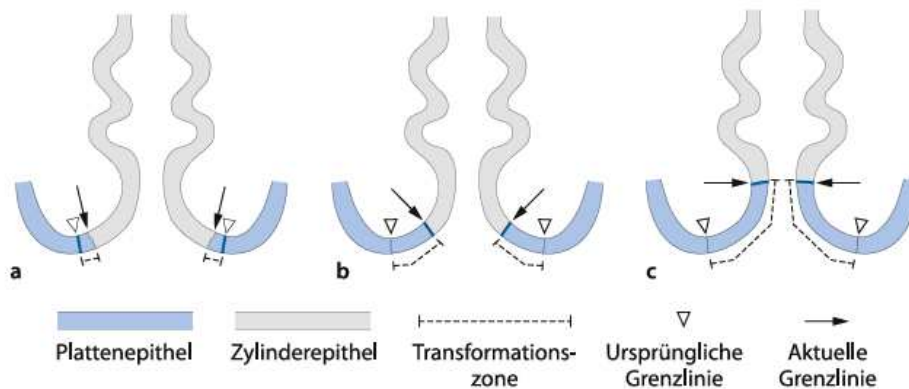


Abbildung 1: Altersabhängige Lokalisation der Übergangszone zwischen unverhorntem Plattenepithel und schleimproduzierendem Zylinderepithel: in der Pubertät (a), beim Einsetzen der Geschlechtsreife (b) und in der Postmenopause (c) [2]

1.1.2 Veränderungen in der Schwangerschaft

Die hormonellen Umstellungen in der Schwangerschaft gehen mit physiologischen Veränderungen der Zervix uteri einher. Es wird eine erhöhte Vaskularisation mit einer daraus resultierenden Hyperämie der Zervix beobachtet. Das Stroma erweicht und wird ödematös, was eine Vergrößerung der Zervix mit verstärkter Ausstülpung der Transformationszone zur Folge hat. Des Weiteren proliferiert die endozervikale Mukosa, resultierend in der Modifikation des glandulären Erscheinungsbildes. Die Schwangerschaftshormone führen auf histologischer Ebene zu hypersekretorischen und hyperplastischen endozervikalen Zellen, was als Arias Stella Phänomen bezeichnet wird. Dies und das Ausbilden einer stromale Dezidualisierung können als Dysplasie fehlgedeutet werden. Zudem wird der zervikale Mukus zäher und opak. Die Zervix ist in der Schwangerschaft empfindlicher, dies kann sich bei der Kolposkopie und Abstrichentnahme in Form von vermehrten Kontaktblutungen äußern. Diese physiologischen Modifikationen können die Beurteilung der Zervix erschweren und dysplastische Veränderungen vortäuschen, oder solche verschleiern. Dies kann das weitere Management verkomplizieren [5, 6].

Zusätzlich zu den hormonellen Veränderungen kommt es in der Schwangerschaft auch zu immunologischen Umstellungen. Wie in Kapitel 1.3.1 erläutert, stellt das humane Papillomavirus (HPV) den größten Risikofaktor für die Entwicklung zervikaler intraepithelialer Neoplasien dar. Die Seroreaktivität ist bei nicht schwangeren Frauen höher als bei schwangeren Frauen, was auf eine verringerte humorale Immunantwort gegen humane Papillomavirus-

Infektionen während der Schwangerschaft hinweist [7]. Hormonelle Schwankungen und eine lokale Immunsuppression während der Schwangerschaft scheinen eine Reaktivierung des humanen Papillomavirus zu begünstigen, was die Befürchtung aufwirft, dass eine Schwangerschaft indirekt die Progression eines Zervixkarzinoms beschleunigen könnte [8]. Nobbenhuis et al. stellten fest, dass Frauen eine höhere Prävalenz von Hochrisiko-HPV während der Schwangerschaft aufwiesen als postpartal. Obwohl der Langzeitverlauf einer Hochrisiko-HPV-Infektion nicht signifikant beeinflusst zu sein scheint, fand man Hinweise darauf, dass die Schwangerschaft die Clearance von Hochrisiko-HPV vorübergehend beeinflusst. Während in den ersten beiden Trimestern eine verringerte Viruselimination im Vergleich zu nicht schwangeren Frauen beobachtet wurde, zeigte sich ab dem dritten Trimester ein Anstieg der Clearance-Rate, der postpartal deutlich ausgeprägt war und die zuvor beobachtete Reduktion auszugleichen scheint. Dies deutet darauf hin, dass während der Schwangerschaft eine veränderte Immunantwort vorliegt [9].

1.2 Maligne Entartung der Zervix

1.2.1 Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN)

Die persistierende Infektion mit dem humanen Papillomavirus (HPV) verursacht vor allem im Bereich der Transformationszone die prä-maligne Entartung von zervikalen Epithelien. Dabei können sowohl das mehrschichtige Plattenepithel der Vagina und Portio vaginalis als auch das drüsige Zylinderepithel der Endozervix, aber vor allem das metaplastische Plattenepithel der TZ, neoplastisch transformiert werden. Diese präinvasiven Präkanzerosen sind obligat für die Entwicklung des invasiven Zervixkarzinoms. Dessen Vorstufen werden als zervikale intraepitheliale Neoplasien oder als Dysplasien bezeichnet. Bei Präkanzerosen des Zylinderepithels spricht man vom Adenokarzinom in situ (AIS) [4].

Auf histologischer Ebene werden Dysplasien des Plattenepithels der Zervix durch die Proliferation von atypischen Zellen charakterisiert. Es kommt zur Störung der epithelialen Architektur mit Verlust der Zellpolarität und Stratifizierung. Zusätzlich lässt sich eine Zunahme von abnormen Mitosen und Kernatypien wie Hyperchromasie feststellen. Gemäß dem Ausmaß der Zellatypien und Architekturstörungen wird der Grad der zervikalen intraepithelialen Neoplasie festgelegt, siehe Abbildung 2. Voraussetzung für die Klassifikation als intraepitheliale Neoplasie ist die Intaktheit der Basalmembran, ab deren Durchbruch spricht man von einem invasiven Karzinom [4, 5].

Vormals wurden zervikale intraepitheliale Neoplasien in der WHO-Klassifikation 2003 in drei histologische Stadien unterteilt: CIN I, CIN II und CIN III. Histologisch zeigt sich bei CIN I eine geringgradige Dysplasie mit Reifungsstörungen im basalen Drittel des Epithelverbandes. CIN II wird als eine zytoplasmatische Reifung lediglich im oberen Drittel des Epithels und CIN III durch ein diffuses basales bzw. parabasales Zellbild ohne Reifungsunterschiede über sämtliche Zelllagen hinweg charakterisiert [5].

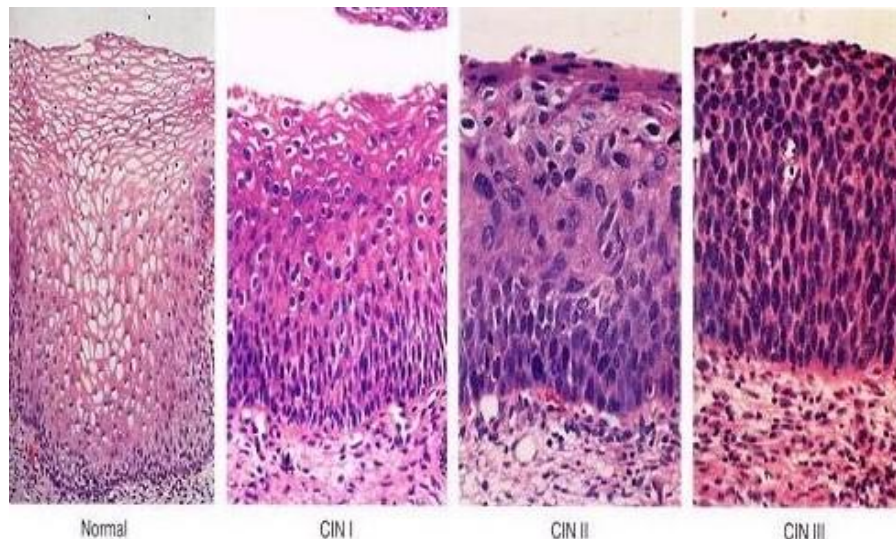


Abbildung 2: Histologisches Bild der Stadien zervikaler intraepithelialer Neoplasien in HE-Färbung [10]

Gemäß der besonders im angloamerikanischen Raum verbreiteten und 1988 etablierten Bethesda Klassifikation besteht die Auffassung, dass es aus klinischer und molekularer Sicht ausreicht die zervikalen Läsionen, anstatt von zuvor in drei in zwei Kategorien zu unterteilen. Demnach haben sich die Begriffe „low grade intraepithelial squamous lesion“ (LSIL) und „high grade intraepithelial squamous lesion“ (HSIL) etabliert. Die zweistufige Klassifikation wird heute bevorzugt, da sie klinisch und prognostisch besser zu handhaben ist und wird demnach auch durch die WHO-Klassifikation des weiblichen Genitaltraktes 2020 empfohlen [11].

Mit dieser Klassifikation wird die Dynamik der Infektion mit dem HP-Virus betont. LSIL (vormals CIN I) wird vor allem bei transienten Infektionen beobachtet. HSIL ist mit Viruspersistenz und höheren Progressionsraten assoziiert kann insbesondere bei jungen Frauen weiter in CIN II und CIN III unterteilt werden, da CIN II mit einer deutlich höheren Spontanregressionsrate assoziiert ist [5, 12, 13].

Zervikale intraepitheliale Neoplasien sind in jedem Stadium rückbildungsfähig. Mit Zunahme des Dysplasiegrades nimmt die Regressionsrate ab und Persistenz- und Progressionsraten

steigen. Daher bilden sich vor allem low-grade Läsionen häufig zurück. Dies wurde auch in der systematischen Übersichtsstudie von Ostör et al. über den natürlichen Verlauf von CIN beobachtet. Die genauen Prozentzahlen sind in Tabelle 1 zusammengefasst [14].

Tabelle 1: Natürlicher Verlauf von intraepithelialen Neoplasien nach Ostör et al. [14]

	Regression	Persistenz	Progression	Progression zum invasiven Karzinom
CIN I	57 %	32 %	11 %	1 %
CIN II	43 %	35 %	22 %	5 %
CIN III UND CIS	32 %	56 %		12 %

1.2.2 Das invasive Zervixkarzinom

Die Gesamtprogressionszeit von Dysplasie zum Karzinom beträgt ungefähr 10-15 Jahre. Dabei stellt das Plattenepithelkarzinom mit einem Anteil von circa 80% den häufigsten histologischen Subtyp dar. Ein Adenokarzinom liegt in 15% der Fälle vor, andere Subtypen sind selten [4]. Weltweit stellte das Zervixkarzinom 2020 die vierthäufigste Krebserkrankung der Frau dar, mit einer Inzidenz von 604.000 Erkrankungen und einer Mortalität von 342.000 pro Jahr. Davon wurde der Großteil in Ländern mit begrenzten Ressourcen verzeichnet, in denen das Zervixkarzinom das zweithäufigste Tumorgeschehen und eine der tumorassoziierten Haupttodesursachen ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Inzidenz und Mortalität stark abhängig vom Angebot und der Inanspruchnahme von Früherkennungsprogrammen, sowie von der Durchimpfungsrate mit dem HPV-Impfstoff in der Bevölkerung sind. [15, 16]

1.2.3 Dysplasien in der Schwangerschaft

Das Zervixkarzinom ist das am häufigsten diagnostizierte Malignom in der Schwangerschaft. Abnorme zervikale Zytologien treten in bis zu 5 % der Schwangerschaften auf, deren Diagnostik sich in der Schwangerschaft aufgrund von hormonaler und immunologischer Veränderungen oft nicht aussagekräftig ist [17, 6]. Zudem könnten die verstärkte uterine Durchblutung und die Zervixdilatation während der Geburt die Ausbreitung von Tumorzellen fördern und so das Fortschreiten der Erkrankung begünstigen. Aktuelle Studien zeigen jedoch, dass die Schwangerschaft weder die Prognose der Mutter negativ beeinflusst noch, dass neonatale Komplikationen zu erwarten sind [18]. Es bestehen derzeit keine Hinweise auf einen

Einfluss der Schwangerschaft auf die Entstehung zervikaler intraepithelialer Neoplasien. Die Inzidenz von CIN bei schwangeren Patientinnen verhält sich ident zu jener Nicht-Schwangerer [19, 20]. Die Studienlage geht bezüglich Regression, Persistenz und Progression zervikaler intraepithelialer Neoplasien auseinander. In einigen Studien wurden postpartal hohe spontane Regressionsraten von 48-70 % verzeichnet [21-23]. Es wurden jedoch auch höhere postpartale Persistenzraten von 75 %, sowie Regressionsraten so gering wie 12 % beobachtet [19, 24]. Die Progression zum invasiven Karzinom in der Schwangerschaft kommt selten vor [6]. Der Einfluss des Geburtsmodus auf den Verlauf von CIN ist umstritten. Ahdoot et al. verzeichneten die spontane Regression von HSIL bei 60 % der Patientinnen mit vaginaler Geburt, jedoch keine Regression bei Sectio [25]. Dies unterstützte die Theorie, dass das Geburtstrauma an der Zervix eine Regression von CIN bewirken könnte. Dies wurde wiederum in einer Studie von Coppola et al. entkräftet, da keine Korrelation zwischen Entbindungsweg und Befundpersistenz festgestellt werden konnte [19].

1.3 Ätiologie und Prävention zervikaler Dysplasien

1.3.1 Ätiologie

Den wichtigsten Risikofaktor für die Entstehung neoplastischer Veränderungen der Zervix uteri stellt die persistierende Infektion mit humanen Papillomaviren dar. Diese Verbindung wurde sowohl epidemiologisch als auch tumorbiologisch anhand von zahlreichen Studien bestätigt [26-28]. Harald zur Hausen wies als erster die DNA des HP-Virus in Zervixkarzinomen und Condyloma acuminata nach und identifizierte HPV 16 als Hauptverursacher zervikaler Neoplasien und deren Vorstufen [5, 27]. Seitdem wurden bereits mehr als 70 HPV-Typen identifiziert, von welchen 12 sicher mit der Entstehung des Zervixkarzinom in Verbindung gebracht werden können [4, 26, 29].

Man unterscheidet High-Risk und Low-Risk Typen, welche gemäß ihres onkogenen Potentials klassifiziert werden. Zusätzlich gibt es auch 8 possibly oncogenic HPVs wie HPV 26 oder 53, welche 19 % der HSIL (CIN 3) und 4 % der Karzinome verursachen [30]. Die High Risk Typen 16 und 18 verursachen höhergradige Veränderungen und sind verantwortlich für 70 % der Zervixkarzinome. Low Risk Typen wie 6 und 11 werden nur selten bei schwerwiegenderen Läsionen und vor allem bei Kondylomen und geringgradigen Dysplasien beobachtet. Jedes Epithel der Zervix kann durch HPV infiziert werden. Die HPV-Typen scheinen sich bezüglich ihrer bevorzugten Zielzellen zu unterscheiden. HPV 16 führt vorherrschend zu Dysplasien des Plattenepithels und HPV 18 und 48 eher zur Entartung des drüsigen Zylinderepithels [5, 31].

Bis zu 80% der Frauen werden im Laufe ihres Lebens mit HPV infiziert, der Infektionsgipfel liegt im Alter von 20-25 Jahren [29, 32]. Die Übertragung erfolgt überwiegend per Sexualkontakt und daher leiten sich die HPV-assoziierten Risikofaktoren überwiegend vom Sexualverhalten ab. Der Zeitpunkt der sexuellen Initiation, die Anzahl der Sexualpartner und deren respektives Sexualverhalten beeinflussen das Risiko, sich mit HPV zu infizieren [33, 34]. Multiparität wurde ebenso als Risikofaktor beschrieben, denn es ist davon auszugehen, dass durch frühere sexuelle Initiation und vermehrten Sexualkontakt eine erhöhte HPV-Exposition stattgefunden hat [35]. Stabilisierung des sexuellen Verhaltens oder der Erwerb von Immunität gegen das HPV Virus können Erklärungen für die Abnahme der Prävalenz mit fortschreitendem Alter darstellen [36].

In der Regel erfolgt die Infektion im Zeitraum nach der Kohabitarche und verläuft größtenteils asymptomatisch. Bei 80% der Frauen kommt es innerhalb des ersten Jahres nach HPV-Akquisition zu deren Clearance, die Infektion verläuft also transient und ist nach diesem Zeitraum nicht mehr nachweisbar. Es ist noch ungeklärt, ob die HP-Viren vom Körper eliminiert werden können, oder ob sie unter der Nachweisgrenze weiter persistierten. Wenn das Virus weiter nachweisbar bleibt, spricht man von Persistenz [12, 13]. Es wird zudem die Möglichkeit diskutiert, dass eine Infektion latent persistiert und später wieder auftreten kann [37]. Die bedeutendsten Determinanten für die HPV-Persistenz scheinen Viruslast und HPV-Typ zu sein, der Einfluss des Alters auf den Verlauf der Infektion ist jedoch umstritten. High-Risk Typen persistieren länger als Low-Risk Typen [29].

Die persistierende Infektion mit dem humanen Papillomvirus ist erforderlich für die Entstehung des Zervixkarzinoms und dessen präinvasiver Vorläuferläsionen [28]. Die Progression einer HPV-Infektion zur zervikalen Neoplasie wird zusätzlich von zahlreichen Kofaktoren beeinflusst. Immundefizienz, zum Beispiel als Folge einer HIV-Infektion kann die Immunantwort gegen die HPV-Infektion schwächen und so zu deren Progression beitragen. Ebenfalls als Risikofaktor zu nennen ist eine langbestehende orale Kontrazeption, der zugrundeliegende Pathomechanismus ist jedoch noch nicht ausreichend geklärt. Nikotinabusus wurde auch als Risikofaktor für die Entwicklung von Dysplasien identifiziert. Dies trifft jedoch nur auf Plattenepithelkarzinome zu, es wurde keine Risikoerhöhung für die Entstehung von Adenokarzinomen beobachtet [38, 39]. Auch ein niedriger sozioökonomischer Status wurde mit erhöhtem Auftreten von zervikalen Neoplasien in Verbindung gebracht, dies könnte durch den verminderten Zugang zu Früherkennungsuntersuchungen und vermindertes Bewusstsein für Screening- und Impfprogramme erklärt werden [16, 40].

In der Schwangerschaft wurde keine höhere Prävalenz positiver HPV-DNA Nachweise festgestellt als bei Nicht-Schwangeren. Daraus lässt sich ableiten, dass Schwangere kein erhöhtes Risiko für die Entwicklung HPV-assoziiertes zervikales intraepitheliales Neoplasien aufweisen [6].

1.3.2 Die HPV-Impfung

Die effektivste Methode zur Prävention HPV-assoziiertes intraepitheliales zervikales Neoplasien ist die Impfung gegen das HP-Virus [41, 42]. Der Impfstoff setzt sich aus der leeren Virushülle des HP-Virus zusammen und enthält daher keine onkogene HPV-DNA [32]. Die Impfung schützt vor persistierender Infektion mit den prävalentesten high-risk HPV-Typen und ist nun bereits als neunvalenter Impfstoff HPV 6/11/16/18/31/33/45/52/58 (Gardasil 9) verfügbar. Mit entsprechender Immunisierung könnten 90% aller HPV-assoziierten Zervixkarzinome weltweit verhindert werden. Der quadrivalente Impfstoff HPV 6/11/16/18 (Gardasil) zeigt eine vergleichbar hohe Effektivität [43]. Die Future II Studie hat ergeben, dass persistierende HPV-Infektionen und die Entstehung von CIN II+ durch die Impfung mit einer Effektivität von 95-100% verhindert werden können. Auch im Beobachtungszeitraum der Studie von 14 Jahren konnte keine Abnahme der Wirkung verzeichnet werden. Die Impfung beseitigt weder eine bestehende HPV-Infektion, noch beeinflusst sie deren Verlauf. Daher hat die Immunisierung präventiven, aber keinen therapeutischen Effekt [42]. Die Immunisierung zeigt daher die höchste Effektivität, wenn sie vor dem ersten Sexualkontakt erfolgt. Zusätzlich ist sie bis zum 45. Lebensjahr und nach Konisation noch sinnvoll. Die Impfung zeigt ein gutes Sicherheitsprofil, es wurden nur leichte impftypische Lokal- und Allgemeinreaktionen wie Rötung an der Einstichstelle, Kopfschmerzen und Gliederschmerzen beobachtet [32, 44]. Die Annahme, dass die Impfung vermehrt Autoimmunerkrankungen hervorrufen würde, wurde entkräftet [45].

1.4 Diagnostik in der Schwangerschaft

1.4.1 Zytologie

Der zytologische Abstrich nach Papanicolaou (PAP-Abstrich) stellt seit seiner Einführung das meistverwendete Screeningverfahren zur Früherkennung von zervikalen Dysplasien dar. Diese Früherkennungsmethode hat signifikant zur Reduktion der Inzidenz und Mortalität des Zervixkarzinoms geführt. Der Zellabstrich erfolgt von der Transformationszone nach dem Abtupfen der Zervix mit einem Spatel oder Bürstchen. Es ist unerlässlich diesen Bereich des

Übergangs des Plattenepithels der Ektozervix in das Zylinderepithel der Endozervix genau zu treffen, da sich hier die Dysplasien entwickeln. Bei der Abstrichentnahme muss berücksichtigt werden, dass die Transformationszone unter hormonellem Einfluss steht und deren Lage daher je nach Patientin variabel ist. Das Zellmaterial wird anschließend auf einen Objektträger aufgebracht und fixiert oder bei der Dünnschichtzytologie in einen mit Fixationslösung gefüllten Behälter eingebracht. Die Zytologie wird anschließend nach Papanicolaou gefärbt und lichtmikroskopisch befundet. Zur Klassifikation wird in Österreich die ÖGZ-Nomenklatur und im angloamerikanischen Raum das Bethesda-System 2014 verwendet, welche einander in Abbildung 3 gegenübergestellt sind [4, 32].

Das allgemeine Vorgehen nach zytologischem Befund bei PAP I und II besteht im Einhalten des normalen Vorsorgeintervalls. Je nach genauem Befund ist bei PAP III eine weiterführende Diagnostik wie Kolposkopie oder Histologie empfohlen. Bei PAP IIID liegen low-grade Läsionen vor, welche aufgrund ihrer Regressionstendenz in 3 Monaten kontrolliert und erneut evaluiert werden sollten. Liegt ein PAP IV oder PAP V vor, wird die Vorstellung in einer Dysplasiesprechstunde mit histologischer Sicherung empfohlen.

Die Sensitivität beträgt 50-80 % und ist stark von der Qualität der Probenentnahme abhängig, die Spezifität ist mit 95 % verhältnismäßig höher. Die Zytologie etabliert daher lediglich eine Verdachtsdiagnose, welche allein nicht zu therapeutischen Konsequenzen führen sollte [32].

In der Schwangerschaft sind durch die hormonell bedingten, physiologischen Veränderungen der Zervix die Probenentnahme und die Interpretation des Befundes erschwert. Die Sensitivität für die Diagnose von high-grade Läsionen liegt zwischen 70-80%. Zusammenfassend scheint sich die Detektionsrate zervikaler Neoplasien per Zytologie bei Schwangeren und Nicht-Schwangeren annähernd gleich zu verhalten [20].

Tab.: Österreichische gynäkologische Zytologie-Nomenklatur 2017 mit Bethesda-Äquivalent

PAP-Gruppe	Textliche Befundwiedergabe Zervixzytologie	Äquivalent: Bethesda-System 2015
0	nicht beurteilbar a) nicht bearbeitet wegen technischer und/oder administrativer Mängel ... (Ursache angeben)	unsatisfactory for evaluation a) rejected specimen (not processed) because ... (specimen not labelled, slide broken etc.)
	b) bearbeitet – aber nicht auswertbar wegen ... (Ursache angeben – siehe Abstrichqualitätskriterien)	b) fully evaluated, unsatisfactory specimen: Specimen processed and examined, but unsatisfactory for evaluation of epithelial abnormality because of ... (obscuring blood etc.)
I	normales, altersentsprechendes Zellbild (inkl. Plattenepithelmetaplasie) in gut beurteilbaren und repräsentativen Abstrichen; vermehrte Entzündungszellen ohne Epithelalteration; Atrophie ohne Zytolyse in repräsentativen Abstrichen	negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM)
II	entzündliche (wenn möglich Organismus angeben: Pilze, Trichomonaden, HSV, bakterielle Mischflora etc.); reaktiv/reparative oder degenerative Veränderungen; Hyper- und Parakeratose; tubare Metaplasie; schwangerschaftsassozierte Zellen; normale Endometriumzellen (nur bei klinischer Angabe postmenopausal oder Frau ³ 45 Jahre); bestrahlungsassozierte Zellveränderungen; atrophes Zellbild mit Zytolyse	negative for intraepithelial lesion or malignancy/ other (NILM)
	normales, altersentsprechendes Zellbild, allerdings mit eingeschränkter Abstrichqualität	
III	stärker ausgeprägte entzündlich-regenerative und/oder degenerative und/oder atrophe Veränderungen mit nicht sicher beurteilbarer Dignität (SIL oder invasives Karzinom nicht auszuschließen)	atypical squamous cells – undetermined significance (ASC-US)
	stärker ausgeprägte entzündlich-regenerative und/oder degenerative und/oder atrophe Veränderungen mit nicht sicher beurteilbarer Dignität; atypische unreife Metaplasie, HSIL oder invasives Karzinom nicht auszuschließen.	atypical squamous cells – cannot exclude a high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H)
IIID	HPV-assozierte Zellveränderungen (Koilozyten, Dyskeratozyten).	low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)
	Zellen einer niedriggradigen squamösen intraepithelialen Läsion/ Neoplasie (LSIL). Optional: Entspricht vormalis einer CIN 1 oder geringgradigen Dysplasie	
IIIG	atypische glanduläre Zellen (wenn möglich angeben: endozervikal oder endometrial oder nicht näher zuordenbar) eher proliferativ, reaktiv	atypical endocervical or endometrial or glandular cells (NOS or specify in comment) (AGC)
	atypische glanduläre Zellen (wenn möglich angeben: endozervikal oder endometrial) mit Verdacht auf neoplastische Veränderungen	atypical endocervical or glandular cells, favor neoplastic (AGC)
IV	Zellen einer hochgradigen squamösen intraepithelialen Läsion/Neoplasie (HSIL). Optional: Entspricht vormalis einer CIN 2/3 oder mäßiggradigen bis hochgradigen Dysplasie.	high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)
	Zellen eines endozervikalen Adenocarcinoma in situ (AIS)	endocervical adenocarcinoma in situ (AIS)
V	Zellen eines (vermutlich) invasiven Plattenepithelkarzinoms	squamous cell carcinoma
	Zellen eines Adenokarzinoms (wenn möglich spezifizieren: endozervikal oder endometrial oder extrauterin)	Adenocarcinoma (endocervical, endometrial, extrauterine, NOS)
	Zellen anderer maligner Tumoren (wenn möglich Tumorzelltyp gemäß aktueller WHO-Klassifikation angeben)	other malignant neoplasms (specify)

Abbildung 3: Österreichische Gynäkologische-Zytologie-Nomenklatur 2018 mit Bethesda-Äquivalent

[46]

1.4.2 Kolposkopie

Die Kolposkopie dient der Beurteilung der Oberfläche der Portio und Teilen des Zervikalkanals mit bis 6- bis 12-facher Vergrößerung unter dem Auflichtmikroskop [32]. Die Kolposkopie

dient zur Abklärung auffälliger Zytologien und weiterführend der Identifikation von atypischen Bezirken um diese gezielt biopsieren zu können. Bei der Untersuchung wird die Oberflächenstruktur, die Gefäßzeichnung, Farbveränderungen und die Reaktion der Portio auf Essig- und Jodprobe befundet. Zuerst wird die Zervix mit Hilfe eines Spekulum eingestellt und Schleim mit einem Wattetupfer entfernt. Daraufhin erfolgt die initiale Inspektion der Portio, dabei wird auf das Vorliegen einer Ektopie, Leukoplakie bzw. Keratose und auf die Gefäßzeichnung geachtet wird. Nun können eine Zytologie und andere Abstriche gewonnen werden.

Zur Essigprobe wird die Portio mit 3 bis 5 %iger Essigsäure betupft, dies bewirkt eine Schleimfällung und das ödematöse Hervorquellen des ektopischen Zylinderepithels. Bei positiver Essigprobe tritt bei präkanzerösem Plattenepithel eine Weißfärbung oder auch Leukoplakie auf. Gering essigweiß kann auch Zylinder- und metaplastisches Epithel reagieren. Zusätzlich treten bei atypischem Epithel die Oberflächenstrukturen verstärkt hervor und können eine Punktierung, Mosaik oder atypische Gefäße zeigen.

Anschließend wird die Schiller'sche Jodprobe durchgeführt, welche auf der Reaktion der Lugol'schen Lösung mit dem Glykogen des Plattenepithels beruht. Dieses verfärbt sich durch die Jodlösung mahagonibraun und ist somit jodpositiv. Epithelien, welche kein Glykogen enthalten wie das Zylinderepithel oder metaplastisches Epithel lassen sich nicht färben und sind jodnegativ. Liegt atypisches, glykogenfreies Plattenepithel vor, so verfärbt es sich jodgelb und stellt eine Indikation für die Biopsie dar [4, 5].

In der Schwangerschaft unterliegt die Zervix wie in vorigen Kapiteln bereits angesprochen physiologischen hormonellen Veränderungen, welche die Diagnostik von zervikalen Neoplasien erschweren können. Einerseits können Reaktionen wie Dezidualisierung eine Dysplasie vortäuschen und zur Überschätzung von Läsionen führen. Andererseits können Läsionen, wenn sie ohne zusätzliche Diagnostik kolposkopisch befundet werden, unterschätzt werden. Daher sollte die Kolposkopie bei Schwangeren nur von besonders erfahrener Fachpersonal durchgeführt werden. Die wichtigste Aufgabe der Kolposkopie in der Schwangerschaft besteht im Ausschluss eines invasiven Karzinoms und in der Ermöglichung einer gezielten Biopsieentnahme [24].

1.4.3 Histologie

Im Rahmen der Kolposkopie soll von verdächtigen Bezirken eine Stanzbiopsie zur histologischen Beurteilung entnommen werden. Die Biopsie stellt den Goldstandard zur

Diagnosesicherung von zervikalen Neoplasien dar und die Histologie ist entscheidend für die weiteren Therapieplanung [4].

In der Schwangerschaft ist man mit der Biopsie aufgrund des erhöhten Blutungsrisikos durch schwangerschaftsbedingte Modifikationen der Zervix oftmals zurückhaltend. Es besteht jedoch keine Evidenz, dass das Biopsieren in der Schwangerschaft risikobehafteter ist. Es wurden keine bedrohlichen Blutungen und keine signifikante Erhöhung der Frühgeburtenrate verzeichnet [6, 47]. Palle et al. empfehlen aufgrund der hohen beobachteten Persistenzraten von CIN und der erschwerten kolposkopischen Beurteilung der Zervix eine großzügige Verwendung von Biopsien in der Schwangerschaft. Sie empfehlen die bioptische Abklärung bei allen Schwangeren mit auffälliger Zytologie zur besseren Planung des weiteren Managements in der Schwangerschaft und postpartal. Endozervikale Kürettage ist in der Schwangerschaft kontraindiziert [24]. Origoni et al. empfehlen eine Biopsie nur wenn das Ergebnis Auswirkungen auf das Management haben würde, wie bei Verdacht auf das Vorliegen eines invasiven Karzinoms [6].

1.4.4 HPV-Nachweis

Mit high-risk HPV-Typen (hr-HPV) als Hauptrisikofaktor für die Entwicklung von zervikalen Dysplasien, stellt deren Nachweis via PCR eine weitere diagnostische Möglichkeit dar. Die Probenentnahme und -analyse erfolgt im Rahmen der Durchführung des PAP-Abstriches mittels Dünnschichtzytologie „ThinPrep“. Dabei wird das Zellmaterial mit einem Kunststoffbürstchen akquiriert und in eine Fixationslösung transferiert. Aus der Lösung kann schließlich die Zytologie, sowie mittels PCR-Testung der Nachweis von Hochrisiko-HPV-Stämmen bestimmt werden. Grundsätzlich kann der HPV-Nachweis allein oder in Kombination mit der Zytologie zum primären Screening in Rahmen der Vorsorgeuntersuchung, oder als Progressionsmarker bei suspekter Zytologie verwendet werden [4].

Studien haben gezeigt, dass persistierende CIN durch den Nachweis von high-risk HPV früher erkannt werden als durch alleinige Zytologie. Dies trifft besonders auf die Detektion von CIN2+ Läsionen zu [48]. Die Sensitivität der HPV-Testung ist signifikant höher als die der Zytologie. In Kombination weisen die Verfahren einen negativen prädiktiven Wert von fast 99 % auf. Die Spezifität ist jedoch eingeschränkt, da HPV-Infektionen vor allem in der Population der 15 bis 25-Jährigen häufig sind und einer hohen Clearance unterliegen. Daher ist das generelle Screening nach hr-HPV erst nach dem 30. Lebensjahr sinnvoll, da davor eine HPV-Infektion oft transient ohne klinische Relevanz verläuft und sonst die Gefahr einer Überdiagnostik besteht. [49, 50]. In der Nachsorge ist der HPV-Status ein präziserer Marker für den Verlauf

oder das Wiederauftreten von Läsionen nach konservativer Therapie als die Zytologie [51]. Im letzten Jahrzehnt hat sich der Trend zur HPV-Testung als primäres Screeningverfahren aufgrund der hohen Sensitivität gefestigt.

1.4.5 p16/Ki-67 Dualfärbung

Der immunzytochemische Immunassay CINtec® PLUS dient der Bestimmung der Biomarker p16 und Ki-67 im zytologischen Zervikalabstrich. Die simultane Detektion der Überexpression des zellzyklusregulatorischen Proteins p16 und der Expression des Proliferationsmarkers Ki-67 deutet auf die Deregulation im Rahmen eines malignen Prozesses hin und zeigt somit eine transformierende HPV-Infektion an. Die Immunfärbung zur Detektion von p16 fand schon zuvor Verwendung, jedoch musste zusätzlich die Morphologie gefärbten Zellen beurteilt werden. Dies ist bei Dualfärbung in Kombination mit Ki-67 nicht mehr notwendig [52, 53].

Zusätzlich zu einer vergleichbar hohen Sensitivität weist die Dualfärbung eine signifikant höhere Spezifität als die HPV-Testung für die Detektion von high-grade Läsionen auf. Die p16/Ki-67-Dualfärbung (CINtec® PLUS) ermöglicht im Gegensatz zum reinen HPV-Nachweis eine differenzierte Einschätzung des biologischen Verhaltens einer HPV-Infektion. Während der HPV-Test eine hohe Sensitivität für das Vorhandensein einer Infektion mit Hochrisiko-HPV aufweist, ist seine Spezifität durch die besonders in der Altersgruppe Schwangerer häufige Detektion transienter, nicht-transformierender/produktiver Infektionen eingeschränkt. Diese Infekte sind typischerweise CINtec-negativ und weisen ein geringeres onkogenes Potenzial auf. Die Dualfärbung hingegen erkennt spezifisch transformierende Infektionen, bei denen es bereits zur Deregulation des Zellzyklus durch die Integration viraler Onkogene kommt – charakterisiert durch eine p16/Ki-67-Koexpression. Solche Infektionen sind mit einem höheren Risiko für Persistenz oder Progression assoziiert und gelten als CINtec-positiv. [52, 54, 55].

In der Schwangerschaft erschweren physiologische Veränderungen der Zervix die Interpretation zytologischer Befunde. Daher ist die p16/Ki-67-Färbung ein wertvolles Instrument zur Triage bei auffälliger PAP-Zytologie: Sie weist mit hoher Sensitivität und Spezifität auf das Vorliegen von CIN2+ (HSIL) hin und kann somit zwischen klinisch relevanten und eher regredienten Veränderungen unterscheiden. [56]

Zugrundeliegende CIN2+ bei LSIL oder ASC-US Zytologien werden mit sehr hoher Sensitivität und Spezifität detektiert. Nachdem es hierzu in der Vergangenheit unterschiedliche Einschätzungen gab, konnte die PALMS-Studie diesen Zusammenhang nun in einer prospektiven Untersuchung bestätigen. [55, 57]. Dies macht CINtec® PLUS besonders sensitiv

für die Triage zweifelhafter Zytologien und verringert die Zuweisungen zu verzichtbaren Kolposkopien, Verlaufskontrollen und Zusatzdiagnostik [53, 58, 55].

Bisher wurde die Verwendung der p16/Ki-67 Dualfärbung zur Vorhersage des postpartalen Verlaufs eines auffälligen zervikalen Befundes in der Schwangerschaft lediglich in einer retrospektiven Pilotstudie von Trutnovsky et al. erforscht [59]. Zytologie, Kolposkopie und HPV-Testung sind in der Schwangerschaft schwieriger durchzuführen und weniger aussagekräftig. In der Pilotstudie wurde in der Schwangerschaft ebenfalls eine hohe Sensitivität und Spezifität bei der Detektion von high-grade Läsionen bei auffälliger Zytologie nachgewiesen. CINtec[®] PLUS könnte daher ein vielversprechender Indikator für den klinischen Verlauf und die postpartale Histologie von zervikalen Dysplasien sein [59].

1.6 Psychologischer Aspekt

Die Diagnose HPV-assoziiertes zervikales intraepitheliales Neoplasie erzeugt nachweislich psychosexuellen Distress und die Angst vor Progression bei Patientinnen. Bei HSIL- und auch LSIL-Befunden kann die Möglichkeit des Fortschreitens zum Karzinom für die Betroffenen als lebensgefährliche Bedrohung empfunden werden. Durch HPV verursachte Dysplasien können zu Besorgnis bezüglich sexueller Konsequenzen wie Infektion des Partners, Kinderlosigkeit und verminderter sexueller Attraktivität führen. Es ist essenziell, die Sorgen der Patientinnen diesbezüglich ernst zu nehmen und eine stabile Kommunikationsbasis zu schaffen. Weiterführende Untersuchungen wie HPV-Nachweis, Kolposkopie oder Biopsie haben einen negativen Effekt auf das Sexualverhalten der Frau. Jedoch bieten Untersuchungen eine Möglichkeit der Aufklärung und Beruhigung der Patientin, was eine Verbesserung der psychosexuellen Gesundheit und Verminderung des Distresses zur Folge hatte [60, 61].

1.7 Hypothesen

Ogleich der ursprüngliche Titel der Arbeit das Management von auffälligen PAP-Befunden in der Schwangerschaft erwähnt, fokussiert sich die vorliegende Analyse ausschließlich auf die Frage, ob eine p16/Ki-67-Dualfärbung den postpartalen Verlauf verlässlich vorhersagen kann.. Infolgedessen konzentriert sich diese Zwischenauswertung auf die Prognose von Regression, Persistenz oder Progression sowie die Korrelation mit der postpartum festgestellten Histologie (LSIL vs. HSIL).

Im Rahmen dieser Studie wurden folgende Hypothesen formuliert, um die diagnostische Aussagekraft der CINtec[®] PLUS Dualfärbung bezüglich des postpartalen Verlaufs von auffälligen zervikalen Befunden in der Schwangerschaft zu evaluieren:

1. Dual-Staining Positivität in der Schwangerschaft korreliert mit Persistenz oder Progression des Befundes post partum.
2. Dual-Staining Positivität korreliert mit einem positiven HPV-Status post-partum.
3. Dual-Staining Positivität in der Schwangerschaft korreliert mit HSIL- Histologie (CIN 2+) post partum.

2 Material und Methoden

Es handelt sich um eine prospektive Observationsstudie, die an der Frauenklinik der Medizinischen Universität Graz durchgeführt wurde. Ziel der Studie ist es, die Aussagekraft der CINtec[®] PLUS Dualfärbung zum Management auffälliger PAP-Abstrichen in der Schwangerschaft zu evaluieren. Insbesondere wurde der prädiktive Wert der p16/Ki-67 Färbung in Bezug auf die postpartale Histologie analysiert.

Die Rekrutierung der Patientinnen begann im Februar 2017 und endete im Oktober 2024. Der Studieneinschluss der geplanten 119 Patientinnen verlief langsamer als geplant, und es wurde daher zwei zusätzliche Studienzentren (LKH St. Pölten und LKH Schwarzach) initiiert.

Es liegt ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz Graz und der beiden anderen Kliniken vor. Die Verarbeitung aller personenbezogenen Daten erfolgte anonymisiert und unter Einhaltung der EU-Datenschutzgrundverordnung.

Im Rahmen der Diplomarbeit wurden die vorhandenen Daten gesammelt, in eine Excel Liste eingetragen, sowie eine erste Zwischenauswertung von Patientinnen, bei denen die Studienergebnissen bereits vollständig vorhanden waren, durchgeführt.

2.1 Rekrutierung und Studienablauf

Die Patientinnen wurden aufgrund auffälliger PAP-Befunde oder seltener Histologie im Rahmen von Schwangerenuntersuchungen an die Dysplasieambulanz der jeweiligen Frauenkliniken überwiesen. Dort wurden die Patientinnen im Zuge der Vorstellung in der Ambulanz für die Studie rekrutiert.

Die Einschlusskriterien zur Studie bestanden im maternalem Alter von über 18, dem Nachweis einer intakten Schwangerschaft, eines auffälligen PAP-Abstriches nach ÖGZ (PAP III, IIID, IV). oder Bethesda (ASCU-US; ASC-H; LSIL; HSIL) Klassifikation oder einer auffälligen Histologie und einer unterschriebenen Einverständniserklärung.

Ein Ausschlusskriterium stellte der Verdacht auf klinische oder histologische Invasion des Befundes dar. Bei Erfüllung der Einschlusskriterien und Ausschluss von Invasivität wurden die Patientinnen zur Teilnahme an der Studie eingeladen, aufgeklärt und die Einverständniserklärung unterschrieben.

Im Studienverlauf waren insgesamt vier Visiten angesetzt: drei Visiten peripartal (eine pro Trimenon) eine postpartale Visite 6 Wochen nach der Geburt. Die Datenerhebung umfasste

eine klinische Anamnese, Kolposkopie, Abstriche für PAP-Test, CINtec[®] PLUS und HPV-Test sowie eine histologische Sicherung nach der Geburt.

Bei der ersten Visite wurden die Baselinevariablen, wie demografische Charakteristika und eine erweiterte gynäkologische Anamnese erhoben. Zusätzlich wird eine Kolposkopie durchgeführt und ein Zervikalabstrich für PAP-Färbung und CINtec[®] PLUS sowie für einen HPV-Test abgenommen. Bei der zweiten und dritten Visite wurde zur Kontrolle eine Kolposkopie durchgeführt. Bei der vierten Visite welche postpartal angesetzt wurde, erfolgte neben einer erneuten Kolposkopie, die histologische Sicherung der Läsion, sowie ein zweiter Zervikalabstrich. Weiters wurden Informationen über den Geburtsmodus erhoben.

2.2 Baselinevisite

Die Baselinevisite im ersten Trimester erfolgte nach Einschluss der Patientin in der Studie bei Erfüllung der Einschlusskriterien und nach informiertem Einverständnis. Wegen verzögerter Rekrutierung, wurden auch Patientinnen im 2. Trimester in die Studie eingeschlossen. Alle im Laufe der Visite gesammelten Daten wurden im designierten Prüfbogen (CRF) dokumentiert. Zuerst wurde eine Anamnese bezüglich der Demografie, sowie zusätzlicher klinisch relevanter Daten erhoben. Im Zuge der klinischen Anamnese wurden die Gravidität und Parität, der Konzeptionsweg, die Pilleneinnahme, der Nikotinkonsum, das Vorhandensein einer HPV-Impfung und gynäkologischen Vorerkrankungen wie CIN oder Condyloma accuminata erfragt. Mittels vaginalen Ultraschalls wurde auf das Bestehen einer Herzaktion oder Mehrlingsschwangerschaft untersucht, sowie anhand der SSL die Schwangerschaftswoche bestimmt. Die Kolposkopie wurde von einer spezialisierten Gynäkolog*in vorgenommen. Der kolposkopische Befund wurde im CRF vermerkt und bei Möglichkeit digital fotodokumentiert. Bei Indikation wurde eine kolposkopisch geleitete Biopsie durchgeführt.

Im Rahmen der Kolposkopie wurde ein Zervikalabstrich mittels PAP-cone oder Cytobrush abgenommen und in die PreservCyt-Lösung (ThinPrep[®]) der Firma Hologic eingebracht. Diese Probe wurde für 3 verschiedene Tests verwendet. Zum Ersten erfolgte ein qualitativer cobas[®] HPV-Test (Roche) zur Detektion von 14 high-risk HPV-Typen, mit spezifischer Genotypisierung von HPV-Typ 16 und 18. Zum Zweiten wurde eine zervikale Dünnschichtytologie nach Papanicolaou angefertigt und gemäß der München III und Bethesda Klassifikation beurteilt. Zum Dritten wurde die Probe mit Benützung des CINtec[®] PLUS Kits (Roche mtm laboratories) der p16/Ki-67 Dualfärbung unterzogen. Das Testkit wurde nach Angaben des Herstellers Roche mtm laboratories angewendet und wurde durch die Fima zur

Verfügung gestellt. Bei p16 Überexpression färbt sich das epitheliale Zytoplasma braun. Ki-67 Expression führt zur Rotfärbung des Nukleus. Ein positives Testresultat wurde grundsätzlich als das simultane Vorliegen beider Farbreaktionen in mindestens einer Zelle definiert. Dabei blieb die zelluläre Morphologie unbeachtet. Die Ergebnisse wurden im Rahmen der Studie nach Ausmaß der Farbreaktion semiquantitativ als negativ, fraglich positiv, gering positiv, mäßig positiv, hochgradig positiv ausgewertet. In dieser Zwischenauswertung der Studie wurden alle Reaktionen welche als fraglich, gering, mäßig und hochgradig positiv ausfielen als positiver Dual-Staining Befund bewertet. Als negative klassifizierte Ergebnisse wurden als Dual-Staining negativ bewertet. Das Dual-Staining erfolgte wie erwähnt überwiegend im 1. Trimester, wegen verzögerter Rekrutierung, wurden schließlich auch Patientinnen im 2. Trimester eingeschlossen. Darüber hinaus wurde ein Fragebogen zur Evaluation der Auswirkungen des Befundes auf die gesundheitsassoziierte Lebensqualität der Patientinnen, ausgegeben.

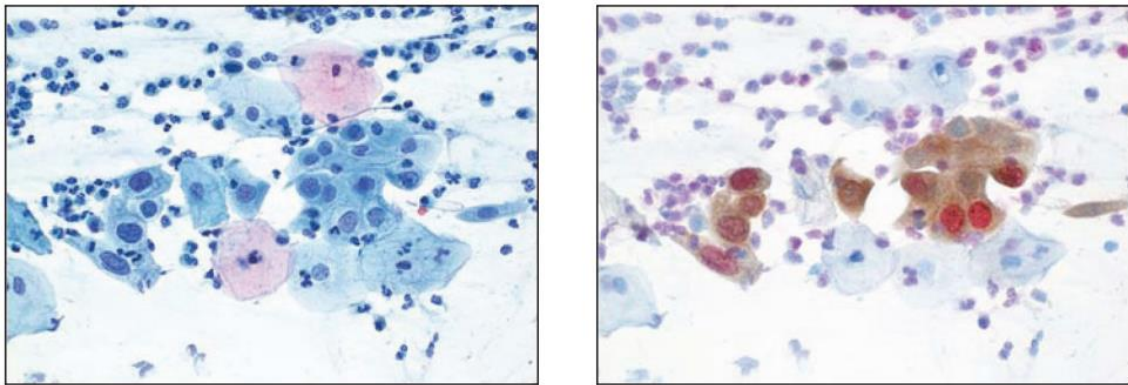


Abbildung 4: Links konventioneller PAP-Abstrich, rechts mit positiver CINtec[®] PLUS Färbung [62]

2.3 Peripartale Visiten

Die beiden Visiten im zweiten und dritten Trimenon dienen der Routinekontrolle der CIN in der Schwangerschaft. Die Patientinnen wurden über die in den Vorvisiten erhobenen Befunde aufgeklärt. Es erfolgte bei beiden Visiten eine kolposkopische Untersuchung mit Beschreibung und bei Möglichkeit digitaler Fotodokumentation des Befundes. Bei Verdacht auf Invasion wurde eine kolposkopisch geleitete Biopsie durchgeführt. Die Kolposkopie wurde von einer spezialisierten Gynäkologin durchgeführt und die Befunde im CRF dokumentiert. Zusätzlich wurde der bei der ersten Visite ausgegebene und ausgefüllte Fragebogen eingesammelt.

2.4 Postpartale Visite

Die vierte Visite wurde 6 Wochen postpartal angesetzt. Es wurden klinische Informationen über die Schwangerschaftsdauer, Geburtsmodus und Geburtsdatum des Kindes erhoben. Anschließend wurde wieder eine Kolposkopie mit Fotodokumentation von einer spezialisierten Gynäkologin durchgeführt. Im Zuge der Kolposkopie wurde wie zur Baselinevisite ein Zervikalabstrich abgenommen und in das ThinPrep®-Behältnis (Hologic) eingebracht. Die Probe wurde wiederum für dieselben 3 Tests verwendet. Dies umfasste den qualitativen cobas® HPV-Test mit Nachweis der häufigsten hr-HPV Stämme, eine PAP-Dünnschichtzytologie und die CINtec® PLUS Färbung. Die Befunde wurden nach den unter 2.2 beschriebenen Kriterien interpretiert. Zusätzlich erfolgte postpartal eine kolposkopisch geführte Biopsie und je nach Lage der Transformationszone eine endozervikale Kürettage zur Gewinnung der postpartalen Histologie. Die Anzahl der Biopsien wurde durch das kolposkopische Erscheinungsbild bestimmt. Die histologische Probe wurde von einem erfahrenen Pathologen nach der WHO-Klassifikation (HSIL/ LSIL) befundet. Alle erhobenen Daten wurden im Prüfbogen dokumentiert. Zusätzlich wurde wieder derselbe Fragebogen zur Evaluation der Lebensqualität der Patientinnen wie zur ersten Visite ausgegeben.

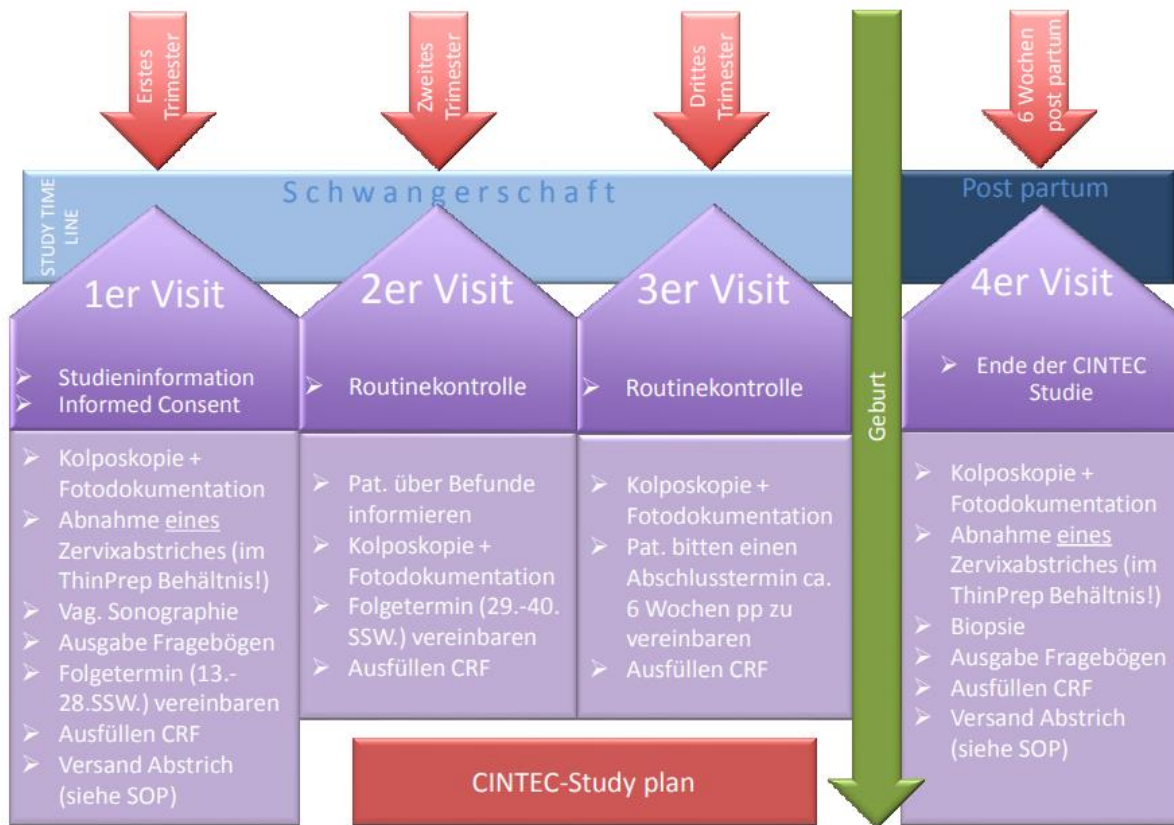


Abbildung 5: Überblick über den CINtec®-Studienplan

2.5 Datenmanagement und Datenanalyse

Die Studiendaten wurden mittels Excel systematisch erfasst, pseudonymisiert und mit patientinnenspezifischen Identifikationscodes versehen. Des Weiteren erfolgte die Eingabe der Patientinnendaten aus den Studienprüfbögen. Fehlende Informationen wurden ergänzt, indem diese im Dokumentationsprogramm der Grazer Frauenklinik „Medocs“ recherchiert oder durch telefonische Kontaktaufnahme mit den Patientinnen ermittelt wurden.

Im Rahmen der Diplomarbeit wurde eine Zwischenauswertung der Patientinnen, bei denen bereits alle Befunde vollständig vorliegend waren, durchgeführt. Dies war bei 52 von 129 rekrutierten Patientinnen der Fall. Patientinnen mit fehlenden präpartalen CINtec® PLUS-Testergebnissen oder unvollständiger postpartaler Histologie wurden von der Analyse ausgeschlossen.

Die statistische Analyse wurde anonymisiert mit SPSS durchgeführt. Es erfolgte eine deskriptive Analyse der Daten, kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwert,

Standardabweichung, Median, Modus, sowie Minimum und Maximum präsentiert. Kategorische Variablen wurden als absolute und relative Häufigkeit dargestellt.

Der Hauptzielparameter bestand im Vergleich der Patientinnengruppen mit positivem und negativem CINtec[®] PLUS-Ergebnis hinsichtlich der postpartalen Histologie und der Beurteilung der Aussagekraft der Färbung bezüglich der Prädiktion des CIN-Verlaufs. Zusätzlich wurden potenziell relevante Einflussfaktoren wie Alter, Gravidität und Parität, HPV-Status, HPV-Immunisierung, Nikotinkonsum sowie der Geburtsmodus hinsichtlich möglicher Assoziationen mit den CINtec[®] PLUS-Ergebnissen und des Verlaufs analysiert.

Es wurde entschieden, dass im Rahmen der Diplomarbeit keine Auswertung der Fragebögen oder der Ergebnisse der morphologischen Kolposkopie erfolgt.

Zur Prüfung der Signifikanz wurde für dichotome Variablen der Fisher-Exact-Test und für multimodale Variablen bei Erfüllung der Voraussetzungen der Chi-Quadrat-Test angewendet. Ein p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant definiert.

Der diagnostische Wert der CINtec[®] PLUS Dualfärbung in Bezug auf den klinischen Verlauf und die postpartale Histologie wurde mittels Sensitivität, Spezifität sowie negativ und positiv prädiktivem Wert ermittelt.

3 Ergebnisse

In die Zwischenauswertung wurden 52 von 129 Patientinnen eingeschlossen. Die Auswahl erfolgte basierend auf dem Vorhandensein der präpartalen CINtec[®] PLUS-Färbung sowie des postpartalen histologischen Befundes. Zunächst wurden die demografischen und klinischen Daten dargestellt, gefolgt von einer Vergleichsanalyse zwischen den Gruppen mit positivem und negativem CINtec[®] PLUS-Ergebnis.

3.1 Demografie und klinische Merkmale

Die demografischen und klinischen Charakteristika der Studienpopulation sind in Tabelle 2 dargestellt. Das mediane Alter der Patientinnen betrug 30 Jahre mit einer Spanne von 21 bis 43 Jahren. Der Durchschnittswert für den BMI betrug rund 25 kg/m².

Die Erstvorstellung erfolgte überwiegend im 2. Trimenon im Median in der 15. Schwangerschaftswoche mit einer Spanne zwischen 6 und 31 Wochen. Hinsichtlich der Parität waren die Frauen nahezu gleich verteilt, 48% waren Nullipara und 52% Multipara. Fast alle waren Einlingsschwangerschaften (98 %). Nur eine Patientin zeigte bei Baselinevisite eine Zwillingschwangerschaft.

In 94% der Fälle war die Konzeption spontan erfolgt, während 6 % der Schwangerschaften durch assistierte Reproduktion (IVF oder ICSI) entstanden. Die Entbindung fand im Mittel in der 39. Schwangerschaftswoche statt. Zwei Drittel der Patientinnen entbanden vaginal und ein Drittel per Sectio.

12 % der Patientinnen rauchten aktiv, 30 % hatten früher geraucht und 58 % waren lebenslang Nichtraucherinnen. Die Anzahl der Packyears variierte von 0 bis 23 Jahren mit durchschnittlich 5 Packyears. Zudem hatten 67 % der Patientinnen in der Vergangenheit orale Kontrazeptiva eingenommen. Der Anteil der vollständig gegen HPV geimpften Frauen war mit 8 % sehr gering.

Tabelle 2: Demografische Charakteristika der Studienpopulation

Alter (Jahre) (N=50)		30 (21-43)
BMI (kg/m ²) (N=51)		25,32 (± 5,11)
SSW zu Erstvisite (N=52)		15 (6-31)
SSW zu Geburt (N=48)		39 (± 2,24)
Packyears (N=41)		5,07 (± 5,40)
Parität (N=52)	Nulliparität	48,1%
	Multiparität	51,9%
Fetale Pluralität (N=52)	Einlinge	98,1%
	Mehrlinge	1,9%
Konzeption (N=52)	Spontan	94,2%
	IVF	3,8%
	ICSI	1,9%
Geburtsmodus (N=47)	Vaginal	66%
	Sectio	34%
Nikotin (N=50)	Ja	12%
	Nein	30%
	Z.n.	58%
Orale Kontrazeption (N=43)	Früher	67,4%
	Nie	32,6%
HPV-Impfstatus (N=50)	Ja	8%
	Nein	92%

Angaben in Mittelwert ± SD oder Median (min-max) oder Anzahl (%);

SSW= Schwangerschaftswoche, BMI: Body Mass Index, ICSI = Intrazytoplasmatische Spermieninjektion, IVF = In vitro Fertilisation

Vergleich zytologischer, virologischer und histologischer Befunde vor und nach der Geburt zwischen CINtec[®] PLUS-Gruppen

Zur detaillierteren Analyse wurden die Patientinnen basierend auf ihrem CINtec[®] PLUS-Testresultat in zwei Gruppen unterteilt: eine Gruppe mit positivem und eine mit negativem Ergebnis. Die Verteilung war dabei exakt ausgeglichen, mit jeweils 50 % (26 von 52 Patientinnen) pro Gruppe. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der PAP-Tests, HPV-Tests und histologischen Untersuchungen vor und nach der Geburt aufgeteilt nach Gruppen.

Die präpartalen PAP-Befunde zeigten Unterschiede zwischen den Gruppen. In der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe wiesen 47,6 % der Patientinnen eine hochgradige Veränderung (PAP IV) auf, während dieser Befund in der negativen Gruppe nur bei 19,2 % vorkam. Ein PAP IIID wurde in beiden Gruppen häufig beobachtet (23,8 % vs. 42,3 %). PAP III war in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe häufiger (9,5 % vs. 4,2 %), während PAP II in der negativen Gruppe dominiert (26,9 % vs. 14,3%).

Postpartal zeigte sich in beiden Gruppen eine gewisse Regression der zytologischen Veränderungen. Ein PAP II kam in der negativen Gruppe häufiger vor (42,1 % vs. 29,2 %), während PAP III in der positiven Gruppe dominierte (12,5 % vs. 5,3 %). PAP IIID trat nur in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe auf (16,7%). Hochgradige Veränderungen (PAP IV) waren vor allem in der CINtec[®] PLUS-negativen Gruppen vertreten (33,4 % vs. 47,3 %).

Bezüglich des präpartalen HPV-Status war die Verteilung ebenfalls unterschiedlich. In der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe waren 40,9 % der Patientinnen mit anderen High-Risk-HPV-Typen infiziert, während dies in der negativen Gruppe bei 50 % der Patientinnen der Fall war. Eine Infektion mit HPV 16 war in der positiven Gruppe häufiger (31,8 % vs. 16,7 %), wohingegen HPV 18 ausschließlich bei CINtec[®] PLUS-positiven Patientinnen nachgewiesen wurde.

Auch bezüglich des postpartalen HPV-Status unterschieden sich die Gruppen. Während in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe weiterhin 36,4 % der Patientinnen HPV 16-positiv waren, war dieser Anteil in der negativen Gruppe mit 13,6 % niedriger. Mehr als ein Hochrisiko-HPV-Typ wurde in beiden Gruppen nachgewiesen, allerdings mit einer höheren Häufigkeit in der positiven Gruppe (22,7 % vs. 9,1 %).

Die histologischen Befunde nach der Geburt zeigten in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe häufiger hochgradige Läsionen (HSIL: 53,8 %) im Vergleich zur negativen Gruppe (42,3 %).

Low-Grade-Veränderungen lagen in beiden Gruppen ähnlich häufig vor. Unauffällige Befunde waren in beiden Gruppen vertreten, jedoch mit einer höheren Rate in der CINtec® PLUS-negativen Gruppe (38,5 % vs. 30,8 %). Es wurde in keiner der Gruppen eine Progression zu einem invasiven Karzinom festgestellt.

Tabelle 3: Klinische Befunde der Studienpopulation nach CINtec® PLUS Ergebnis

		CINTEC+	CINTEC-
CINTEC (N=52)		50% (26)	50% (26)
PAP Präpartal (N=52)	PAP 0	4,8% (1)	0
	PAP II	14,3% (3)	26,9% (7)
	PAP III	9,5% (2)	4,2% (1)
	PAP IIID	23,8% (5)	42,3% (11)
	PAP IV	47,6% (10)	19,2% (5)
HPV Präpartal (N=48)	16 +	31,80% (7)	16,70% (4)
	18 +	9,10% (2)	0
	andere high risk + mehr als ein Typ +	40,90% (9)	50% (12)
	negativ	18,2% (4)	16,70% (4)
	negativ	0	16,70% (4)
PAP Postpartal (N=47)	PAP 0	8,3% (2)	5,3% (1)
	PAP I	0	0
	PAP II	29,2% (7)	42,1% (8)
	PAP III	12,5% (3)	5,3% (1)
	PAP IIID	16,7% (4)	0
	PAP IV	33,4% (8)	47,3% (9)
HPV Postpartal (N=44)	16 +	36,4% (8)	13,6% (3)
	18 +	0	0
	andere high risk + mehr als ein Typ +	31,8% (7)	59% (13)
	negativ	22,70% (7)	9,1% (2)
	negativ	9,1% (2)	15,4% (4)
Histologie Postpartal (N=52)	LSIL	15,4% (4)	19,2% (5)
	HSIL	53,8% (14)	42,3% (11)
	o.B.	30,8% (8)	38,5% (10)

o.B. = ohne pathologischen Befund

3.2 Demografische und klinische Unterschiede zwischen CINtec[®] PLUS-Gruppen

Tabelle 4 fasst die demografischen und klinischen Unterschiede zwischen den Gruppen mit positivem und negativem CINtec[®] PLUS-Test zusammen. Dabei wurden p-Werte mittels Chi-Quadrat-Test (mit * gekennzeichnet) oder Fisher-Exact-Test berechnet, abhängig von den jeweiligen Test-Voraussetzungen. In der Analyse der demografischen und klinischen Parameter ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den CINtec[®] PLUS-positiven und -negativen Patientinnen (Signifikanzniveau: $p < 0,05$).

Ein zentraler Parameter in der Analyse ist der Verlauf des Befundes, welcher als Indikator für die Veränderung der zervikalen Zytologie und Histologie über die Zeit dient. Zur Ermittlung des Verlaufs wurden die postpartalen histologischen Befunde mit den präpartalen Befunden verglichen. Im Großteil der Fälle wurde der präpartale PAP-Befund zur Einteilung herangezogen. In 17 Fällen (32,7 %) war eine präpartale Histologie bekannt und wurde anstelle des PAP-Abstrichs verwendet. Dadurch konnten die drei Kategorien Regression, Persistenz und Progression definiert werden. Die Verteilung dieser Verläufe ist neben Tabelle 4 auch in Abbildung 6 dargestellt.

In Bezug auf den Verlauf des Befundes zeigten sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,943$). Während in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe 42,3 % der Patientinnen eine Regression des Befundes aufwiesen, waren es in der negativen Gruppe 46,2 %. Eine Persistenz des Befundes trat in der positiven Gruppe mit 38,5 % häufiger auf als in der negativen Gruppe (34,6 %), während eine Progression in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe gleich oft beobachtet wurde wie in der negativen Gruppe (19,2 %).

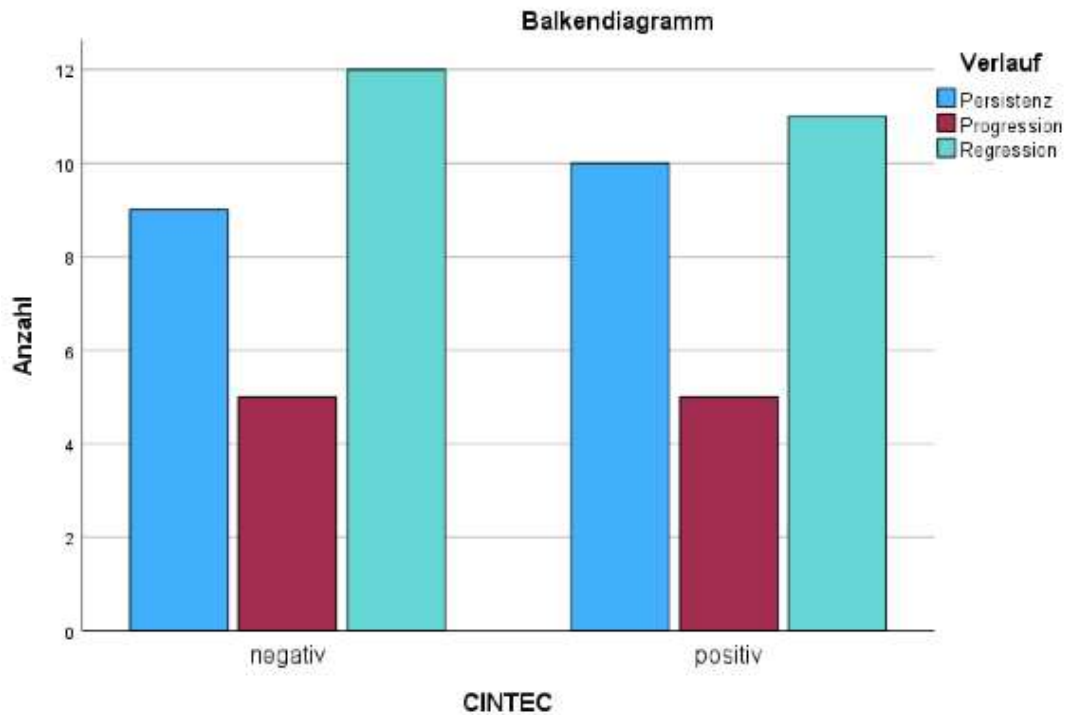


Abbildung 6: Verteilung des Verlaufs der zervikalen Befundes nach CINtec® PLUS-Gruppen

Der postpartale HPV-Status zeigte in beiden Gruppen eine hohe Rate an HPV-positiven Patientinnen, wobei in der CINtec® PLUS-positiven Gruppe 90,9 % weiterhin HPV-positiv waren, verglichen mit 81,8 % in der negativen Gruppe ($p = 0,664$). Präpartal waren alle Patientinnen der CINtec® PLUS-positiven Gruppe HPV-positiv, während in der negativen Gruppe 16,7 % HPV-negativ waren ($p = 0,109$).

Bezüglich der demografischen Variablen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Das Alter war in beiden Gruppen ähnlich verteilt, wobei der Anteil der Patientinnen unter 35 Jahren geringfügig höher in der CINtec® PLUS-negativen Gruppe lag (76 % vs. 72 %; $p = 1$). Auch der BMI zeigte keine relevanten Unterschiede ($p = 0,565$). Hinsichtlich der Parität waren in der CINtec® PLUS-positiven Gruppe 42,3 % der Patientinnen Nullipara, verglichen mit 53,8 % in der negativen Gruppe ($p = 0,579$).

Auch hinsichtlich des Geburtsmodus, des Nikotinstatus, der oralen Kontrazeption und des HPV-Impfstatus fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Geburtsmodus und CIN-Verlauf konnte nicht nachgewiesen werden ($p = 0,095$). Bei regredienten Läsionen hatten 75 %, bei persistierenden 43,8 % und bei progressiven 81,8 % der Patientinnen vaginal entbunden.

Tabelle 4: Assoziation von demografischen und klinischen Faktoren mit dem CINtec® PLUS-Ergebnis

		CINTEC +	CINTEC -	p
Verlauf (N=52)	Regression	42,3% (11)	46,2% (12)	0,943*
	Persistenz	38,5% (10)	34,6% (9)	
	Progression	19,2% (5)	19,2% (5)	
HPV postpartal (N=44)	Positiv	90,9% (20)	81,8% (18)	0,664
	Negativ	9,1% (2)	18,2% (4)	
HPV präpartal (N=48)	Positiv	100% (24)	83,3% (20)	0,109
	Negativ	0	16,7% (4)	
Alter (N=50)	< 35 Jahre	72% (18)	76% (19)	1
	≥ 35 Jahre	28% (7)	24% (6)	
BMI (N=51)	<25	68% (17)	57,7% (15)	0,565
	≥25	32% (8)	42,3% (11)	
Parität (N=52)	Nullipara	42,3% (11)	53,8% (14)	0,579
	Multipara	57,7% (15)	46,2% (12)	
Geburtsmodus (N=47)	Spontan	69,6% (16)	62,5% (15)	0,760
	Sectio	30,4% (7)	37,5% (9)	
Nikotin (N=50)	Ja	60% (15)	76% (19)	0,364
	Nein	40% (10)	24% (6)	
Orale Kontrazeption (N=43)	Früher	65% (13)	69,6% (16)	1
	Nie	35% (7)	30,4% (7)	
HPV-Impfstatus (N=50)	Ja	8% (2)	8% (2)	1
	Nein	92% (23)	92% (23)	

* mit Qui-Quadrat-Test statt Fisher Exact Test berechnet, da trichotome Variable

3.3 Prädiktive Aussagekraft des CINtec® PLUS-Tests

Zur Beurteilung des diagnostischen Werts der CINtec® PLUS-Dualfärbung erfolgte die Untersuchung der Vorhersagekraft des Tests bezüglich des klinischen Verlaufs (Regression vs. Persistenz / Progression) und postpartalen histologischen Befunds (HSIL vs. LSIL / unauffällig). Nachfolgend werden zunächst die jeweiligen Zuordnungen (richtig/falsch

positiv/negativ) sowie die berechneten Kennwerte (Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert) beschrieben.

Ein positives Testergebnis des CINtec® PLUS-Tests wurde als richtig positiv (TP) gewertet, wenn im weiteren Schwangerschaftsverlauf oder postpartal eine Persistenz oder Progression des Befundes festgestellt wurde. Zeigte sich hingegen eine Regression, galt der Fall als falsch positiv (FP). Ein negativer CINtec® PLUS-Test war richtig negativ (TN), wenn der Zervixbefund regredient verlief, und falsch negativ (FN), wenn er trotzdem persistierte oder progredient war.

Hinsichtlich der Histologie galt bei der histologischen Aufarbeitung „HSIL“ (CIN II/III) als pathologisch-positiver Befund. „LSIL“ (CIN I) oder unauffällige Ergebnisse wurden als negativ definiert. Ein positiver CINtec® PLUS-Test wurde zum TP, wenn histopathologisch HSIL nachgewiesen wurde, und zum FP, wenn histologisch LSIL oder kein pathologischer Befund vorlag. Entsprechend war ein negativer CINtec® PLUS-Test TN, wenn die Histologie LSIL oder keinen pathologischen Befund zeigte und FN, wenn trotz negativen Tests histologisch der Nachweis einer HSIL erbracht wurde.

Tabelle 5 fasst beide Ansätze zusammen und zeigt, wie sich die Anzahl richtig/falsch positiver bzw. negativer Fälle (TP, FP, TN, FN) auf Sensitivität, Spezifität sowie den positiven (PPV) und negativen prädiktiven Wert (NPV) auswirkt.

Tabelle 5: Prädiktive Aussagekraft von CINtec® PLUS unter Verwendung von Verlauf und Histologie

	TP	FP	TN	FN	SENS	SPEZ	PPV	NPV
Verlauf	15	11	12	14	51,7%	52,2%	57,7%	46,2%
Histologie	14	12	15	11	56,0%	55,6%	53,8%	57,7%

FP = false positive, TN = true negative, TP = true positive, FN = false negative, PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value, SENS = Sensitivität, SPEZ = Spezifität

Unter Verwendung des Verlaufs als Referenz liegen Sensitivität und Spezifität hier jeweils knapp über 50 %. Der Test kann unter dem Gesichtspunkt des Verlaufs nur mäßig zwischen regredienten und nicht-regredienten Befunden unterscheiden. Der PPV von 57,7 % bedeutet, dass ein positiver Test in etwas mehr als der Hälfte der Fälle tatsächlich einer

persistierenden/progredienten Läsion entspricht. Der NPV von rund 46 % wiederum zeigt, dass trotz negativem Testergebnis fast 50 % der Fälle nicht regredient waren.

Im Rahmen der Untersuchung des CINtec[®] PLUS Tests in Bezug auf die histologischen Ergebnisse zeigt sich eine Sensitivität von rund 56 %, womit etwas mehr als die Hälfte aller tatsächlich vorhandenen HSIL-Läsionen durch den CINtec[®] PLUS-Test erkannt wurden. Die Spezifität beläuft sich auf gut 55 %: Knapp die Hälfte der histologisch unauffälligen Fälle wird also durch den Test (fälschlich) als positiv klassifiziert.

Mit einem PPV von 53,8 % und NPV von 57,7 % zeigt der Test moderate prädiktive Werte hinsichtlich des histopathologischen Ergebnisses.

Verlauf und Histologie liefern teils unterschiedliche Ergebnisse, da der klinische Verlauf nicht immer deckungsgleich mit einzelnen histologischen Befunden ist (etwa bei transienten Veränderungen). Sensitivität und Spezifität des Tests sind höher, wenn sie in Bezug auf das histologische Ergebnis getestet werden. Allerdings weist der CINtec[®] PLUS Test in diesem Patientinnenkollektiv für alle Testungen eine eingeschränkte Qualität auf.

4 Diskussion

Die Erkennung und Überwachung zervikaler intraepithelialer Dysplasien in der Schwangerschaft stellen eine besondere Herausforderung im Dysplasiemanagement dar. Durch schwangerschaftsbedingte, physiologische zervikale Veränderungen kann die Interpretation der Zytologie und Kolposkopie erschwert sein. Biopsien werden in der Schwangerschaft zurückhaltend und in der Regel nur bei Verdacht auf Invasivität angewendet, um iatrogene Risiken für Mutter und Kind zu minimieren [63]. Zum einen gilt es also, Interventionen und damit verbundene Risiken für die Schwangerschaft weitestgehend zu vermeiden. Zum anderen soll eine seltene, aber mögliche Progression zum invasiven Karzinom rechtzeitig erkannt werden.

In diesem Kontext bietet die HPV-Testung insbesondere in Kombination mit der Zytologie eine hohe Sensitivität. Vor allem bei jungen Frauen ist sie jedoch durch die häufige Transienz der HPV-Infektion in ihrer Spezifität eingeschränkt [49, 50]. Daher hat sich die p16/Ki-67-Dualfärbung (CINtec[®] PLUS) bei nicht-schwangeren Patientinnen als weiterer Test mit hoher Sensitivität und vor allem verbesserter Spezifität erwiesen. Dies gilt insbesondere für die Unterscheidung von hochgradigen (CIN 2+) zu niedriggradigen Läsionen, womit sich die Zahl überflüssiger Abklärungen reduzieren lässt [52, 54].

Ziel dieser prospektiven Beobachtungsstudie war es, die diagnostische und prognostische Aussagekraft der p16/Ki-67-Dualfärbung (CINtec[®] PLUS) bei Schwangeren mit auffälligem Zervikalbefund zu untersuchen. Dabei wird bewertet, inwieweit die Dualfärbung in der Schwangerschaft eine vorliegende hochgradige CIN-Läsion (CIN2+) post partum zuverlässig identifizieren kann und ob sie eine Vorhersage über den postpartalen Verlauf der Dysplasie ermöglicht. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen dazu beitragen, die Risikostratifizierung in der Schwangerschaft zu verbessern und die klinische Entscheidungsfindung hinsichtlich des Managements auffälliger PAP-Abstriche in der Schwangerschaft zu optimieren. Dies könnte zum Beispiel dazu beitragen, unnötige Zuweisungen zu Kolposkopien, engmaschigen Verlaufskontrollen oder zusätzlicher Diagnostik zu vermeiden. Neben diesen Kernfragen wurden auch Einflussfaktoren wie Parität, Alter, Nikotinkonsum, BMI, orale Kontrazeption und Geburtsmodus in Bezug auf das Färbungsergebnis analysiert. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde eine Zwischenauswertung der Studie mit 52 Patientinnen welche die Auswertungskriterien erfüllten durchgeführt.

4.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Insgesamt ließ sich feststellen, dass die CINtec[®] PLUS-Dualfärbung in der Schwangerschaft nur eine fragliche Vorhersagekraft bezüglich des postpartalen Verlaufs und der Histologie hat. Die Hälfte aller Patientinnen wies präpartal einen positiven CINtec[®] PLUS-Befund auf. Postpartal zeigte sich ein hoher Anteil an Regressionen, sowie eine weiterhin hohe HPV-Positivitätsrate. Die prädiktiven Kennwerte (Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV) zeigten insgesamt eine geringe Aussagekraft von CINtec[®] PLUS bezüglich der Identifikation von zervikalen intraepithelialen Neoplasien mit einem hohen Progressionsrisiko. Diese variierten je nach gewählter Referenz, ob Verlauf oder postpartale Histologie. Während die Histologie als Goldstandard die momentane Gewebeeränderung widerspiegelt, enthält der klinische Verlauf auch dynamische Informationen, etwa über Spontanregressionen nach der Geburt [63]. Entsprechend bewegten sich die Kennwerte des Verlaufs im niedrigeren Bereich als die der Histologie. Entsprechend fallen die Sensitivitäts- und Spezifitätswerte des klinischen Verlaufes niedriger aus als bei der Histologie. Insgesamt bewegten sie sich beide im Bereich von etwa 50–60 %, was auf eine begrenzte diagnostische Trennschärfe hinweist.

4.1.1 Beantwortung der Hypothesen

Hypothese 1: „Dual-Staining Positivität korreliert mit postpartaler Persistenz oder Progression post partum.“

Unsere Daten zeigen, dass Frauen mit präpartal positivem CINtec[®] PLUS-Befund häufiger postpartal persistierende Befunde aufwiesen als die negativ getesteten. Die Progressionsrate in beiden Gruppen erwies sich jedoch als gleich hoch. Diese Beobachtungen waren nicht signifikant, und die berechneten Kennwerte (Sensitivität ~ 50 %, Spezifität ~ 50–60 %) weisen auf eine eingeschränkte Vorhersagekraft von CINtec[®] PLUS bezüglich des postpartalen Verlaufs hin.

Dual-Staining in der Schwangerschaft kann basierend auf dieser Zwischenauswertung fraglich den postpartalen Verlauf eines präpartal auffälligen zervikalen Befundes vorhersagen.

Hypothese 2: „Dual-Staining Positivität korreliert mit einem positiven HPV-Status post partum.“

Bezüglich der Korrelation zwischen Dual-Staining-Positivität und HPV-Status post partum ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang finden. Zwar waren alle präpartal positiv getesteten Dual-Staining-Fälle HPV-positiv, während in der negativen Gruppe 16,7 % HPV-

negativ waren, doch postpartal zeigte sich die Rate an HPV-Positiven in beiden Gruppen hoch (90,9 % vs. 81,8 %). Zwar zeigte sich eine Tendenz, dass bei positivem CINtec[®] PLUS-positive Patientinnen häufiger persistierend HPV-positiv blieben, doch ließ sich daraus keine statistisch belastbare Aussage ableiten.

Dual-Staining in der Schwangerschaft kann basierend auf dieser Zwischenauswertung nicht den postpartalen HPV-Status eines auffälligen zervikalen Befundes post partum vorhersagen.

Hypothese 3: „Dual-Staining Positivität korreliert mit einer HSIL-Histologie (CIN II+) post partum.“

Der Anteil der HSIL-Befunde ist in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe höher als in der negativ getesteten Gruppe (53,8 % vs. 42,3%), was auf eine gewisse Korrelation hindeutet. Die Sensitivität für das Vorliegen einer unterliegenden HSIL bei einem positiven Testergebnis lag lediglich bei 56 %, bei einer Spezifität von rund 56 %. In der CINtec[®] PLUS positiven Gruppe trat postpartal geringfügig seltener ein LSIL-Befund auf als in der positiv getesteten Gruppe (15,4 % vs. 19,2 %), auch hier blieb der Unterschied statistisch insignifikant. Insgesamt weisen diese Beobachtungen auf eine eingeschränkte Aussagekraft des Dual-Staining in Bezug auf den histologischen Befund post partum hin.

Auf Basis dieser Zwischenauswertung kann Dual-Staining in der Schwangerschaft mit präpartal auffälligen zervikalen Befunden nicht zuverlässig vorhersagen, ob postpartal eine HSIL-Histologie vorliegt.

4.2 Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext

Inwiefern Schwangerschaft den Verlauf zervikaler Dysplasien beeinflusst, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Obwohl kein erhöhtes Risiko für Präkanzerosen bei Schwangeren bekannt ist, können physiologische Veränderungen der Zervix in der Schwangerschaft die Detektionswahrscheinlichkeit von Präkanzerosen und Karzinomen beeinflussen [63].

Die aktuelle Studienlage zeigt eine große Spannweite von Spontanregressionsraten zwischen 12 % und 70 %. Tendenziell scheinen Regressionsraten in der Schwangerschaft erhöht zu sein [21–24, 64]. In manchen Studien wurden auch hohe postpartale Persistenzraten von bis zu 75%, beobachtet [19, 65]. Diese wurden jedoch vor allem bei Frauen mit Carcinoma in situ verzeichnet, wo die Spontanrückbildung erwartungsgemäß seltener ist.

Unsere Beobachtung von Regressionsraten von über 40 % liegt im intermediären Bereich. Diese waren in der CINtec[®] PLUS-negativen Gruppe um etwa 4% höher als in der positiven. In unserer Studie fanden sich Persistenzraten von rund 39 % in der CINtec[®] PLUS-positiven Gruppe und bis zu 35 % in der negativen Gruppe. Dies entspricht etwa dem Spektrum von Palle et al., sowie Mailath-Pokorny et al. [24, 64]. Die Progressionsraten waren in beiden Gruppen mit rund 19% genau gleich hoch. Grundsätzlich ist dies widersprüchlich zur Annahme, dass eine positive Färbung mit der Detektion von high grade-Läsionen korreliert. Die Progressionsraten zeigen sich im Schnitt etwas höher als durchschnittlich beobachtet und schließen sich den Beobachtungen von Palle et al. an [24, 64]

Eine Progression zum invasiven Karzinom trat gleich wie in vielen Studien innerhalb dieses Beobachtungszeitraumes nicht auf [23, 24, 64].

Die p16/Ki-67-Dualfärbung wird in der Literatur vorrangig für nicht-schwangere Patientinnen als nützliches diagnostisches Instrument hervorgehoben. Zahlreiche Studien zeigen eine verbesserte Abgrenzung hochgradiger (CIN2+) von niedriggradigen Läsionen. Besonders in der Triage von HPV-positiven Patientinnen hat sich CINtec[®] PLUS als nützlich erwiesen. Ein negatives Testergebnis bei nicht-schwangeren Frauen ist mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für spontane Regression und Virusclearance assoziiert. Zudem zeigt sich der Test im Kollektiv der Nicht-Schwangeren für die frühzeitige Detektion von CIN2+ Läsionen effektiv. Neben der hohen Sensitivität des HPV-Tests wird so auch die Spezifität erhöht mit weniger falsch positiven Ergebnissen. Bei HPV-positiven, aber Dualfärbung-negativen Patientinnen kann das Kontrollintervall auf ein Jahr ausgedehnt werden, ohne dass das Risiko für eine unentdeckte hochgradige Läsion signifikant ansteigt. Dies gilt auch bei eingeschränkter HPV-

Genotypisierung, da die Dualfärbung unabhängig vom spezifischen HPV-Typ einen Hinweis auf das tatsächliche Transformationspotenzial der infizierten Zellen liefert. Zusammenfassend ermöglicht die Dualfärbung ein konservativeres Management, indem unnötige Kolposkopien vermieden und gleichzeitig relevante Läsionen frühzeitig erkannt werden [53, 64, 66-68]. Es wurde erst eine Studie zur Testung der Dual-Färbung bei Schwangeren durchgeführt, welche eine gute Detektionsrate für hochgradige Dysplasien beschrieb. [59].

Unsere Resultate weisen darauf hin, dass bei schwangeren Patientinnen mit auffälliger präpartaler Zytologie eine gewisse Unterscheidung von High- und Low-Risk-Konstellationen mittels CINtec[®] PLUS-Dualfärbung möglich ist. Allerdings blieb eine beträchtliche Rate an falsch positiven beziehungsweise falsch negativen Ergebnissen bestehen, was die prädiktive Aussagekraft dieses Tests bei Schwangeren einschränkt. Dies könnte an den schwangerschaftsbedingten zervikalen Umbauprozessen liegen, die die zytologische Beurteilung und den Immunfärbungs-Status potenziell verfälschen.

Die Literatur geht davon aus, dass die Schwangerschaft nicht nur hormonelle, sondern auch immunologische Veränderungen mit sich bringt. Eine relative Immunsuppression kann die HPV-Clearance vorübergehend negativ beeinflussen, ehe sie postpartal wieder ansteigt. Die in manchen Studien beschriebenen verschlechterten Viruseliminationsraten in den ersten Trimestern und eine erhöhte Clearance gegen Ende der Schwangerschaft bzw. postpartal könnten erklären, warum eine HPV-Infektion während der Schwangerschaft teils einen fluktuierenden Verlauf nimmt. Diese immunologischen Einflüsse könnten auch die Aussagekraft der p16/Ki-67-Dualfärbung beeinträchtigen, da das Expressionsniveau dieser Marker (p16, Ki-67) möglicherweise durch hormonelle und immunologische Faktoren moduliert wird. Ein transformierendes HPV-Geschehen könnte klinisch nicht immer eindeutig abgegrenzt werden, wenn die Immunlage schwankt [7, 8, 9, 18].

In einer Studie von Ciavattini et al. wurde die p16/Ki-67-Expression bei Schwangeren genauer untersucht [69]. Dort war die Assoziation zwischen der p16-Immunfärbung und dem CIN-Grad bei nicht schwangeren Patientinnen signifikant, während sie bei schwangeren Patientinnen nicht nachgewiesen werden konnte. Zudem war die Ki-67-Positivität bei Schwangeren weniger intensiv als bei Nicht-Schwangeren. Ein möglicher Mechanismus wird mit den hormonellen Veränderungen in der Schwangerschaft in Verbindung gebracht, welcher die Expression zellulärer Proteine beeinflusst. Zusammenfassend deuten die Ergebnisse zur p16- und Ki-67-

Expression darauf hin, dass Schwangere möglicherweise ein weniger aggressives biologisches Verhalten der zervikalen Dysplasie aufweisen als Nicht-Schwangere [69]. Dies stellt einen möglichen Grund für den geringgradigen prädiktiven Wert des CINtec[®] PLUS Tests bei den im Rahmen unserer Zwischenauswertung untersuchten Schwangeren dar.

Ein weiterer Fokus der Studie lag auf der Beurteilung möglicher Einflussfaktoren. Besonders kontrovers wird in der Literatur diskutiert, ob der Geburtsmodus (Vaginal vs. Sectio) die Regression von Zervixläsionen begünstigen kann. Es existiert die Hypothese, dass der vaginale Geburtsvorgang zu einer “therapeutischen Traumatisierung” der Transformationszone führen könnte. Die Studienlage zeigt sich diesbezüglich widersprüchlich [19, 22, 25, 70, 71]. Unsere Daten ergaben zwar keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ($p = 0,158$), jedoch zeigten sich bestimmte Tendenzen: Von den Frauen, deren Läsionen regredient verliefen, hatten 52,4 % vaginal entbunden, bei den persistierenden Fällen waren es 72,2 % und bei progressiven Befunden 87,5 %. Bei insgesamt geringer Anzahl an Probandinnen in den jeweiligen Gruppen zeigte sich im Rahmen der statistischen Testung jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Somit lässt sich aus den hier erhobenen Daten keine Empfehlung für eine vaginale Entbindung oder ein Kaiserschnitt in Bezug auf die Progressionsrate von Zervixläsionen ableiten. Allerdings wird, sofern keine medizinische Indikation für eine Sectio besteht, aus geburtshilflichen Gründen eine vaginale Geburt empfohlen [71].

Die Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den CINtec[®] PLUS-positiven und -negativen Patientinnen hinsichtlich Alter, BMI, Parität, Nikotinkonsum, oraler Kontrazeption und HPV-Impfstatus. Dies deutet darauf hin, dass diese Faktoren in der Schwangerschaft keinen wesentlichen Einfluss auf das Testergebnis haben, oder dass die Stichprobengröße zu klein war, um subtile Assoziationen nachzuweisen.

Ein höheres Alter wird in der Literatur häufig mit einer erhöhten Persistenz und Progression von CIN-Läsionen assoziiert, was in dieser Kohorte jedoch nicht beobachtet werden konnte [35]. Auch ein hoher BMI, der in nicht schwangeren Populationen mit einer erhöhten CIN-Persistenz korreliert, zeigte hier keine signifikante Assoziation. Ebenso wurde keine Verbindung zwischen Parität und CINtec[®] PLUS-Testergebnis festgestellt, obwohl frühere Studien darauf hinweisen, dass Multiparität durch früheren Beginn der sexuellen Aktivität das CIN-Risiko erhöhen könnte [35]. Ebenso zeigte der Nikotinkonsum, ein bekannter Risikofaktor für CIN-Persistenz, keine signifikante Assoziation – möglicherweise aufgrund der geringen Fallzahl rauchender Patientinnen [38,39]. Der Großteil der Patientinnen in beiden Gruppen

waren jedoch Raucherinnen. Die fehlende Korrelation mit der oralen Kontrazeption ist ebenfalls bemerkenswert, da einige Studien eine Langzeiteinnahme mit einer erhöhten CIN-Progression in Verbindung bringen [38]. In der Schwangerschaft könnten jedoch andere hormonelle Faktoren diesen Einfluss überlagern. Schließlich zeigte sich auch kein signifikanter Einfluss des HPV-Impfstatus. Dies könnte mit dem geringen Anteil HPV-geimpfter Probandinnen am Gesamtanteil des Studienkollektivs dieser Studie zusammenhängen.

4.3 Stärken und Limitationen

Die größte Stärke dieser Arbeit ist ihr Design als prospektive Beobachtungsstudie. Der Aufbau unterlag einem definierten Untersuchungsprotokoll von vier Visiten (davon eine postpartal) und der gezielten Zervixdiagnostik (inklusive Kolposkopie, HPV-Testung und Histologie). So wurde die Qualität der Daten durch die strukturierte und standardisierte Erhebung gewährleistet. Die Kolposkopien, sowie die Beurteilung der Färbungen und PAP-Befunden wurden von erfahrenem Fachpersonal durchgeführt. Zudem zeigte eine Studie die gute Reproduzierbarkeit der Färbungsergebnisse zwischen Untersuchenden [72]. Das Studienprotokoll stellte zudem die Verwendung derselben Methoden zur Probenentnahme und Bearbeitung sicher, um Variabilität in der Diagnostik zu vermeiden. Der Befundverlauf als auch die histologischen Endpunkte wurden detailliert erfasst und ermöglichten so die dynamische Analyse des Krankheitsverlaufs. Es wurden multiple demografische und klinische Einflussfaktoren ermittelt, um potenzielle Risikokonstellationen zu analysieren. Des Weiteren zeigte sich ein homogenes Patientinnenkollektiv, was sich auch in der Untersuchung der Basischarakteristika widerspiegelt

Trotz der methodischen Stärken sind einige Limitationen zu berücksichtigen. Eine wesentliche Einschränkung ergibt sich aus der geringen Fallzahl. Zum Zeitpunkt der Zwischenauswertung wurden nur 52 Patientinnen vollständig ausgewertet. Dies reduzierte die Aussagekraft, insbesondere für Subgruppenanalysen, da möglicherweise bestehende Unterschiede zwischen den Gruppen in der statistischen Testung das Signifikanzniveau nicht erreichten.

Die Weiteren ergaben sich methodische Herausforderungen, die die Interpretation der Ergebnisse beeinflusst haben könnten. Ein zentrales Problem war der Verlust von Patientinnen während der Beobachtungszeit. Einige Teilnehmerinnen nahmen nicht an der postpartalen Visite teil oder erschienen schon davor ab einer der Kontrolluntersuchungen nicht mehr. So fehlten für diese Fälle wichtige Endpunkte, insbesondere die postpartale Histologie. Dies könnte zu einem Follow-up-Bias geführt haben., da nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich die Patientinnen mit fehlenden Daten systematisch von den vollständig erfassten Fällen unterschieden.

Eine weitere methodische Schwierigkeit liegt in der Variabilität der Beobachtungszeiträume. Während die Studie eine postpartale Visite nach sechs Wochen vorsah, erfolgte diese in einigen Fällen verspätet. Dadurch ergaben sich Unterschiede in der Dauer bis zur Entnahme der postpartalen Histologie, was die Vergleichbarkeit der Befunde erschwerte. Eine längere

Nachbeobachtungszeit könnte beispielsweise zu einer höheren Rate an Regressionen geführt haben, sodass die tatsächliche CIN-Entwicklung nicht mehr exakt mit den präpartalen Befunden korrelierte. Zudem hatten einige Patientinnen ihre Erstvisite erst im zweiten oder dritten Trimenon, wodurch sich ihre individuelle Beobachtungszeit gegenüber jenen unterschied, die bereits im ersten Trimenon in die Studie eingeschlossen wurden. Dies könnte die Beurteilung der CIN-Entwicklung beeinflusst haben, da sich Dysplasien während der Schwangerschaft dynamisch verändern können und eine kürzere Beobachtungszeit möglicherweise weniger Raum für spontane Regression oder Progression ließ.

Zudem wurden die ersten Patientinnen bereits 2017 eingeschlossen, während die zuletzt rekrutierten Teilnehmerinnen aus dem Jahr 2023 stammen. Dies könnte methodische Inkonsistenzen mit sich gebracht haben, da sich klinische Leitlinien, Screeningstrategien oder diagnostische Standards über diesen Zeitraum hinweg geändert haben könnten. Auch die technische Durchführung der CINtec[®] PLUS-Färbung könnte im Verlauf der Jahre leichten Variationen unterlegen sein, sei es durch Unterschiede in den Laborbedingungen, Reagenzien oder in der Interpretation der Färbung. Diese Variabilität könnte zu technischen Messungenauigkeiten geführt haben, die nicht allein biologisch erklärbar sind.

Als eine weitere mögliche Limitation ist die semiquantitative Auswertung der Dual-Staining Ergebnisse zu werten. Im Studienprotokoll wurden „fraglich positiv“, „gering positiv“, „mäßig positiv“ und „hochgradig positiv“ letztlich alle als „positiv“ zusammengefasst. Dabei könnten verschiedene Cut-offs (z. B. nur „mäßig“/„hochgradig positiv“ als „positiv“) andere Kennwerte für Sensitivität und Spezifität ergeben. Es ist denkbar, dass ein strengerer Cut-off ein genaueres Erkennen hochgradiger Läsionen ermöglicht, jedoch gleichzeitig an Sensitivität verliert.

Wir haben zur Bewertung der prädiktiven Aussagekraft der p16/Ki-67-Dualfärbung Verlauf und Histologie miteinander verglichen. Dies war methodisch interessant, führte jedoch teilweise zu abweichenden Ergebnissen, was die Interpretation erschwerte.

Die kolposkopische Beurteilung wurde zwar standardisiert, jedoch durch schwangerschaftsassozierte Zervixveränderungen (z. B. Kontaktblutungen, Eversio) erschwert. In den Daten spiegelt sich dies möglicherweise in Form einer höheren Zahl von unsicheren oder überschätzten Läsionen wider.

Ein weiterer möglicher Störfaktor bestand in der hohen Varianz in Bezug auf HP-Viruslast und HPV-Genotypen, da nicht alle Hochrisiko-HPV-Typen das gleiche onkogene Potenzial besitzen und so das Progressions- oder Regressionsverhalten mitbestimmen könnten.

4.4 Perspektiven und Ausblick

Die abschließende Bewertung der diagnostischen Aussagekraft der CINtec[®] PLUS-Dualfärbung in der Schwangerschaft erfordert künftig größere Patientinnenkohorten und eine langfristige Nachbeobachtung, um robuste und klinisch valide Schlussfolgerungen zu ermöglichen.

Ein bedeutender nächster Schritt wird die Hauptauswertung der Studie sein, in der eine größere Patientinnenzahl erfasst werden wird. Dadurch könnten einige der in dieser Arbeit diskutierten Limitationen, insbesondere die begrenzte Fallzahl und die damit verbundene reduzierte statistische Power, behoben werden. Erweiterte Stichproben könnten präzisere Subgruppenanalysen ermöglichen. Dadurch könnten sich auch Fragen zur Triage-Strategie, zur Rolle von Störfaktoren sowie zur Langzeitprognose von CIN in der Schwangerschaft besser beantworten lassen.

Auch der Einfluss des Geburtsmodus auf die Regression und Persistenz von CIN-Läsionen bleibt weiterhin unklar, da bisherige Studien widersprüchliche Ergebnisse zur zervikalen Heilung nach vaginaler Geburt im Vergleich zur Sectio liefern. Eine systematische Untersuchung dieses Zusammenhangs könnte dazu beitragen, gezieltere Empfehlungen für das postpartale Management zu formulieren.

Darüber hinaus ist eine detailliertere Korrelation zwischen zervikaler Morphologie und den CINtec[®] PLUS-Färbemustern erforderlich, insbesondere in Bezug auf deziduale Veränderungen während der Schwangerschaft, die potenziell zu einer Fehleinschätzung von Läsionen führen könnten. Eine verbesserte Differenzierung könnte die diagnostische Genauigkeit der Dualfärbung in dieser speziellen Patientinnengruppe weiter erhöhen.

Ein weiterer wichtiger Forschungsansatz ist die Rolle der HPV-Typisierung in Kombination mit der p16/Ki-67 Dualfärbung zur Optimierung der Triage-Strategien. Besonders die Unterscheidung zwischen Hochrisiko- und Niedrigrisiko-HPV-Typen könnte helfen, die CINtec[®] PLUS-Dualfärbung gezielter einzusetzen und unnötige invasive Eingriffe bei Patientinnen mit geringem Progressionsrisiko zu vermeiden.

Neben den biologischen und diagnostischen Fragestellungen sollten zukünftig auch psychosoziale Aspekte stärker in den Fokus rücken. Fragebögen könnten wertvolle Erkenntnisse über die psychosexuellen Belastungen während und nach der Schwangerschaft liefern. Eine systematische Analyse dieser Daten könnte dazu beitragen, das

Informationsangebot für Patientinnen zu optimieren und individuelle Beratungsstrategien zu entwickeln. So könnte die emotionale und psychologische Belastung einer CIN-Diagnose während der Schwangerschaft reduziert werden.

Ein innovativer Ansatz für die Zukunft wäre die Implementierung von Deep-Learning-gestützten Tools zur automatisierten Auswertung der Dualfärbung. Diese Technologie könnte den verbleibenden subjektiven Einfluss in der zytologischen und histologischen Diagnostik eliminieren, indem sie eine standardisierte und objektive Beurteilung der Proben ermöglicht. Erste Studien zeigen, dass der Wechsel von der konventionellen PAP-Zytologie zu einer automatisierten, KI-basierten Dualfärbungsanalyse nicht nur eine höhere diagnostische Präzision erzielt, sondern auch die Anzahl unnötiger Kolposkopien deutlich reduziert [73]. Dies gilt insbesondere für eine vollständig geimpfte Population, in der der Anteil klinisch relevanter CIN-Läsionen geringer ist. Durch eine cloudbasierte Implementierung wäre eine solche Technologie weltweit zugänglich und könnte die Qualität der zervikalen Krebsvorsorge für eine breitere Patientinnengruppe verbessern.

4.5 Zusammenfassung

Zervikale intraepitheliale Neoplasien stellen bei schwangeren Patientinnen eine besondere diagnostische Herausforderung dar. Graviditätsbedingte hormonelle und immunologische Umstellungen führen zu physiologischen Veränderungen der Zervix, welche die Interpretation der diagnostischen Methoden und die Einschätzung der Dysplasien erschweren können. Ein Test zur Ermöglichung der Vorhersage des postpartalen Verlaufs eines auffälligen zervikalen Befundes ist daher von Interesse. Das Ziel ist es, unnötige invasive Eingriffe zu vermeiden, ohne dabei relevante Läsionen zu übersehen. Vor diesem Hintergrund ist die Identifikation eines zuverlässigen nicht-invasiven Markers zur Einschätzung des Verlaufs von auffälligen zervikalen Befunden von besonderem Interesse.

Zusammenfassend verdeutlicht die vorliegende Zwischenauswertung, dass die p16/Ki-67-Dualfärbung (CINtec[®] PLUS) in der Schwangerschaft nur begrenzte Aussagekraft hinsichtlich der Detektion hochgradiger CIN-Läsionen und der Vorhersage des weiteren Krankheitsverlaufs besitzt. Sie kann zwar zusätzliche diagnostische Hinweise liefern, ihre Sensitivität und Spezifität liegt jedoch nicht auf dem Niveau, das von nicht-schwangeren Kollektiven bekannt ist. Während die Dualfärbung bei nicht-schwangeren Patientinnen erfolgreich zur Triage eingesetzt wird, konnten in dieser Studie keine signifikanten Korrelationen mit der postpartalen Histologie oder dem HPV-Status nachgewiesen werden.

Die zum Teil erhöhte Spontanregression in der Schwangerschaft sowie hormonelle und immunologische schwangerschaftsassozierten Umbauprozesse der Zervix scheinen die Vorhersagekraft der Dualfärbung zu limitieren. Zusätzlich ist die Aussagekraft durch die geringe Fallzahl und ein teilweises Follow-up-Bias eingeschränkt.

Trotz dieser Einschränkungen legen die Daten nahe, dass ein positiver CINtec[®] PLUS-Befund auf ein höheres Progressionsrisiko hindeuten kann, während ein negativer Befund ein gewisses – jedoch keinesfalls ausreichendes – Maß an Sicherheit bietet. Für eine verlässliche Risikostratifizierung bleibt deshalb ein multimodales Vorgehen entscheidend, das Zytologie, Kolposkopie, HPV-Typisierung und ggf. Biopsie einbezieht. Größere Studien mit längerer Nachbeobachtungszeit und einheitlichen Kriterien könnten dazu beitragen, die klinische Vorhersagekraft der Dualfärbung in der Schwangerschaft besser zu bestimmen und Empfehlungen für ein standardisiertes Management zu entwickeln.

5 Literaturverzeichnis

- [1] Weyerstahl T, Stauber M. Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2013.
- [2] Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. 6th ed. Stuttgart: Thieme; 2019.
- [3] Reich O, Regauer S, McCluggage WG, Bergeron C, Redman C. Defining the Cervical Transformation Zone and Squamocolumnar Junction: Can We Reach a Common Colposcopic and Histologic Definition? *Int J Gynecol Pathol.* 2017;36(6):517-22.
- [4] Kaufmann M, Costa S-D, Scharl A. Die Gynäkologie. 3rd ed. Berlin Heidelberg: Springer; 2013.
- [5] Girardi F, Reich O, Tamussino K, Pickel H. Burghardt's Colposcopy and Cervical Pathology: Textbook and Atlas. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2015.
- [6] Origoni M, Salvatore S, Perino A, Cucinella G, Candiani M. Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in pregnancy: the state of the art. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(6):851-60.
- [7] Sethi S, Müller M, Schneider A, Blettner M, Smith E, Turek L, et al. Serologic response to the E4, E6, and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(2):360-4.
- [8] Freitas LB, Pereira CC, Checon R, Leite JP, Nascimento JP, Spano LC. Adeno-associated virus and human papillomavirus types in cervical samples of pregnant and non-pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;145(1):41-4.
- [9] Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Bezemer PD, Voorhorst FJ, et al. High-risk human papillomavirus clearance in pregnant women: trends for lower clearance during pregnancy with a catch-up postpartum. *Br J Cancer.* 2002;87(1):75-80.
- [10] Emory University School of Medicine. Cervical Cancer [Internet]. Atlanta: 2018 [cited 2025 Feb 22]. Available from: <https://www.cancerquest.org/patients/cancer-type/cervical-cancer#pathology-report-staging>.
- [11] Höhn AK, Brambs CE, Hiller GGR, May D, Schmoeckel E, Horn LC. 2020 WHO Classification of Female Genital Tumors. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2021;81(10):1145-53.
- [12] Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *Jama.* 2002;287(16):2114-9.
- [13] Richart RM. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol.* 1990;75(1):131-3.
- [14] Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol.* 1993;12(2):186-92.

- [15] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
- [16] Olusola P, Banerjee HN, Philley JV, Dasgupta S. Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer and Health Disparities. *Cells.* 2019;8(6).
- [17] Sonoda K, Ohgami T, Hachisuga M, Fujita Y, Okugawa K, Yahata H, et al. Difficulty of cervical cancer diagnosis during pregnancy: A case series analysis of the clinicopathological characteristics and prognosis of cervical cancer diagnosed during pregnancy or within 6 months after parturition. *Mol Clin Oncol.* 2021;14(4):67.
- [18] He Z, Xie C, Qi X, Hu Z, He Y. The effect of preserving pregnancy in cervical cancer diagnosed during pregnancy: a retrospective study. *BMC Womens Health.* 2022;22(1):314.
- [19] Coppola A, Sorosky J, Casper R, Anderson B, Buller RE. The clinical course of cervical carcinoma in situ diagnosed during pregnancy. *Gynecol Oncol.* 1997;67(2):162-5.
- [20] Morimura Y, Fujimori K, Soeda S, Hashimoto T, Takano Y, Yamada H, et al. Cervical cytology during pregnancy--comparison with non-pregnant women and management of pregnant women with abnormal cytology. *Fukushima J Med Sci.* 2002;48(1):27-37.
- [21] Yost NP, Santoso JT, McIntire DD, Iliya FA. Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions. *Obstet Gynecol.* 1999;93(3):359-62.
- [22] Paraskevaidis E, Koliopoulos G, Kalantaridou S, Pappa L, Navrozoglou I, Zikopoulos K, et al. Management and evolution of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;104(1):67-9.
- [23] Fader AN, Alward EK, Niederhauser A, Chirico C, Lesnock JL, Zwiesler DJ, et al. Cervical dysplasia in pregnancy: a multi-institutional evaluation. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(2):113.e1-6.
- [24] Palle C, Bangsbøll S, Andreasson B. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000;79(4):306-10.
- [25] Ahdoot D, Van Nostrand KM, Nguyen NJ, Tewari DS, Kurasaki T, DiSaia PJ, et al. The effect of route of delivery on regression of abnormal cervical cytologic findings in the postpartum period. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(6):1116-20.
- [26] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-27.
- [27] zur Hausen H. Condylomata Acuminata and Human Genital Cancer. *Cancer Research.* 1976;36(2 Part 2):794-.
- [28] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189(1):12-9.
- [29] de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;47:2-13.

- [30] Regauer S, Reich O. The origin of Human Papillomavirus (HPV) - induced cervical squamous cancer. *Curr Opin Virol.* 2021;51:111-8.
- [31] Kovacic MB, Castle PE, Herrero R, Schiffman M, Sherman ME, Wacholder S, et al. Relationships of Human Papillomavirus Type, Qualitative Viral Load, and Age with Cytologic Abnormality. *Cancer Research.* 2006;66(20):10112-9.
- [32] Petru E, Jonat W, Fink D, Köchli O. *Praxisbuch Gynäkologische Onkologie.* 4th ed. Berlin Heidelberg: Springer; 2014.
- [33] Kjaer SK, Chackerian B, van den Brule AJ, Svare EI, Paull G, Walbomers JM, et al. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(2):101-6.
- [34] Moscicki AB, Ma Y, Jonte J, Miller-Benningfield S, Hanson E, Jay J, et al. The role of sexual behavior and human papillomavirus persistence in predicting repeated infections with new human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(8):2055-65.
- [35] Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet.* 2002;359(9312):1093-101.
- [36] Muñoz N, Méndez F, Posso H, Molano M, van den Brule AJC, Ronderos M, et al. Incidence, Duration, and Determinants of Cervical Human Papillomavirus Infection in a Cohort of Colombian Women with Normal Cytological Results. *The Journal of Infectious Diseases.* 2004;190(12):2077-87.
- [37] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(1):11-22.
- [38] Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res.* 2002;89(2):191-9.
- [39] Berrington de González A, Sweetland S, Green J. Comparison of risk factors for squamous cell and adenocarcinomas of the cervix: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2004;90(9):1787-91.
- [40] Downs LS, Smith JS, Scarinci I, Flowers L, Parham G. The disparity of cervical cancer in diverse populations. *Gynecol Oncol.* 2008;109(2 Suppl):S22-30.
- [41] Drolet M, Bénard É, Pérez N, Brisson M. Population-level impact and herd effects following the introduction of human papillomavirus vaccination programmes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2019;394(10197):497-509.
- [42] Kjaer SK, Nygård M, Sundström K, Dillner J, Tryggvadottir L, Munk C, et al. Final analysis of a 14-year long-term follow-up study of the effectiveness and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus vaccine in women from four nordic countries. *EClinicalMedicine.* 2020;23:100401.
- [43] Huh WK, Jaura EA, Giuliano AR, Iversen OE, de Andrade RP, Ault KA, et al. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine

in women aged 16-26 years: a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2017;390(10108):2143-59.

[44] Arbyn M, Xu L. Efficacy and safety of prophylactic HPV vaccines. A Cochrane review of randomized trials. *Expert Rev Vaccines*. 2018;17(12):1085-91.

[45] Genovese C, V LAF, Squeri A, Trimarchi G, Squeri R. HPV vaccine and autoimmune diseases: systematic review and meta-analysis of the literature. *J Prev Med Hyg*. 2018;59(3):E194-e9.

[46] Reich O, Braune G, Eppel W, Fiedler T, Graf A, Hefler L, et al. Joint Guideline of the OEGGG, AGO, AGK and ÖGZ on the Diagnosis and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia and Appropriate Procedures When Cytological Specimens Are Unsatisfactory. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2018;78(12):1232-44.

[47] Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis*. 2007;11(4):201-22.

[48] Bulkman NW, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJ, Bulk S, et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet*. 2007;370(9601):1764-72.

[49] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, 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):524-32.

[50] Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579-88.

[51] Paraskevaidis E, Arbyn M, Sotiriadis A, Diakomanolis E, Martin-Hirsch P, Koliopoulos G, et al. The role of HPV DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature. *Cancer Treat Rev*. 2004;30(2):205-11.

[52] Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, Smith K, Mathews C, Gold MA, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res*. 2012;18(15):4154-62.

[53] Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol*. 2011;119(3):158-66.

[54] Denton KJ, Bergeron C, Klement P, Trunk MJ, Keller T, Ridder R. The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(1):12-21.

[55] Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, Denton K, Bogers J, Schmidt D, 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):373-81.

- [56] Liu W, Gong J, Xu H, Zhang D, Xia N, Li H, et al. Good performance of p16/Ki-67 dual-stain cytology for detection and post-treatment surveillance of high-grade CIN/VAIN in a prospective, cross-sectional study. *Diagn Cytopathol.* 2020;48(7):635-44.
- [57] A, Zechmeister-Koss I. A systematic review of p16/Ki-67 immuno-testing for triage of low grade cervical cytology. *Bjog.* 2015;122(1):64-70.
- [58] Singh M, Mockler D, Akalin A, Burke S, Shroyer A, Shroyer KR. Immunocytochemical colocalization of P16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(1):26-34.
- [59] Trutnovsky G, Kolovetsiou-Kreiner V, Reich O. p16/Ki-67 dual-stained cytology testing may predict postpartum outcome in patients with abnormal papanicolaou cytology during pregnancy. *Acta Cytol.* 2014;58(3):293-6.
- [60] Nagele E, Reich O, Greimel E, Dorfer M, Haas J, Trutnovsky G. Sexual Activity, Psychosexual Distress, and Fear of Progression in Women With Human Papillomavirus-Related Premalignant Genital Lesions. *J Sex Med.* 2016;13(2):253-9.
- [61] Kwan TT, Cheung AN, Lo SS, Lee PW, Tam KF, Chan KK, et al. Psychological burden of testing positive for high-risk human papillomavirus on women with atypical cervical cytology: a prospective study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011;90(5):445-51.
- [62] Roche mtm laboratories. CINtec© PLUS Färbeatlas [Internet]. 2025 [cited 2025 Feb 22]. Available from: <https://www.roche.de/diagnostik/produkte-loesungen/tests-parameter/cintec-plus>.
- [63] Perkins RB, Guido RS, Castle PE, Chelmow D, Einstein MH, Garcia F, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2020;24(2):102-31.
- [64] Mailath-Pokorny M, Schwameis R, Grimm C, Reinthaller A, Polterauer S. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: postpartum histo-pathologic outcome and review of the literature. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2016;16(1):74.
- [65] Grimm D, Lang I, Prieske K, Jaeger A, Müller V, Kuerti S, et al. Course of cervical intraepithelial neoplasia diagnosed during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2020;301(6):1503-12.
- [66] Clarke MA, Wentzensen N, Perkins RB, Garcia F, Arrindell D, Chelmow D, et al. Recommendations for Use of p16/Ki67 Dual Stain for Management of Individuals Testing Positive for Human Papillomavirus. *J Low Genit Tract Dis.* 2024;28(2):124-30.
- [67] Giorgi Rossi P, Carozzi F, Ronco G, Allia E, Bisanzi S, Gillio-Tos A, et al. p16/ki67 and E6/E7 mRNA Accuracy and Prognostic Value in Triage HPV DNA-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113(3):292-300.
- [68] Trzeszcz M, Mazurec M, Jach R, Mazurec K, Kotkowska-Szeps I, Kania M, et al. p16/Ki67 dual stain triage versus cytology in primary human papillomavirus-based cervical cancer screening with limited genotyping. *J Med Virol.* 2023;95(11):e29271.

[69] Ciavattini A, Sopracordevole F, Di Giuseppe J, Moriconi L, Lucarini G, Manciola F, et al. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: Interference of pregnancy status with p16 and Ki-67 protein expression. *Oncol Lett.* 2017;13(1):301-6.

[70] Bracic T, Reich O, Taumberger N, Tamussino K, Trutnovsky G. Does mode of delivery impact the course of cervical dysplasia in pregnancy? A review of 219 cases. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022;274:13-8.

[71] Dasgupta S. The Fate of Cervical Dysplastic Lesions during Pregnancy and the Impact of the Delivery Mode: A Review. *Cureus.* 2023;15(7):e42100.

[72] Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, Schiffman M, Castle PE, Wood SN, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. *Cancer Cytopathol.* 2014;122(12):914-20.

[73] Wentzensen N, Lahrmann B, Clarke MA, Kinney W, Tokugawa D, Poitras N, et al. Accuracy and Efficiency of Deep-Learning-Based Automation of Dual Stain Cytology in Cervical Cancer Screening. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113(1):72-9.