

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Gynäkologie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. Chr. Thomssen)



Vergleichende klinisch-morphologische Betrachtungen des Vulvakarzinoms und seiner Präkanzerose VIN

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Kathrin Katzer

geboren am 08.09.1967 in Halle/ Saale

Betreuer: PD Dr. med. habil. J. Buchmann

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. U. Köhler
2. Prof. Dr. med. habil. H.-J. Holzhausen
3. PD Dr. med. habil. J. Buchmann

28.4.2005

19.1.2006

urn:nbn:de:gbv:3-000010696

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000010696>]

Referat und bibliographische Beschreibung

Das Plattenepithelkarzinom der Vulva und die Präneoplasie VIN gehören zu den eher seltenen Tumorerkrankungen der Frau. Der geringen Inzidenz ist eine nur schleppende Erforschung ätiologischer Risikofaktoren geschuldet. Jüngste epidemiologische Studien beschrieben neben der Verdopplung der VIN-Inzidenz eine Verlagerung ins jüngere Alter bei den VIN und Karzinomen. Neben der HPV-Infektion als wichtiger Pathogenesefaktor muß in der Karzinomentwicklung von weiteren virusunabhängigen Ursachen ausgegangen werden.

Das Interesse der retrospektiven Untersuchung galt den klinisch-pathologischen Aspekten der Frauen mit 111 Vulvakarzinomen und 23 VIN, die von 1984-95 in der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg primär operiert wurden. Neben Erfassung anamnestisch- operativer Daten standen die histologisch- virologischen und immunhisto-chemischen Merkmale aus pathogenetischer Sicht hinsichtlich verschiedener Entitäten im Zentrum der Betrachtungen. Es erfolgte der Versuch einer morphologischen Typenzuordnung und die Analyse des Tumorrandes. Die in- situ Hybridisierung ergänzte vereinzelt die Virushistologie und die Bedeutung der p53-Mutation/ Wachstumsfraktion wurde geprüft.

In der Vulvakarzinogenese ist von einem biphasischen Verlauf innerhalb von ca. 16 Jahren auszugehen mit Auftreten der VIN im mittleren Alter von 48 Jahren und dem Karzinom mit 64. Während die Altersverteilung beim Karzinom eingipflig verlief, zeigten die VIN drei Altersgipfel mit 30% der Frauen im Alter von 30 Jahren und jünger. Im o.g. Zeitraum ließ sich keine Altersvorverlagerung oder Häufigkeitsveränderung beobachten. Immunsuppressive Bedingungen spielten in 56% der Vulvakarzinome und in 91% der VIN eine Rolle. Symptomatik und makroskopischer Befund, bevorzugt auf den Labien, waren unspezifisch und mit einer klinischen Fehleinschätzung, in 30% der VIN und 7% der Karzinome verbunden. Die signifikant hohe Multifokalität war mit signifikant höherer HPV-Infektion der VIN gegenüber den Karzinomen verbunden. Hinsichtlich der Definition zweier unterschiedlicher Karzinomformen war eine jüngere, morphologisch warty-basaloide Karzinomgruppe mit Assoziation zu Multifokalität, VIN angrenzend und den Risikofaktoren HPV und Rauchen abgrenzbar von einer älteren Frauen- gruppe. Ein ähnlich differentes Risikoprofil ließ sich für die VIN erkennen. Das angrenzende Epithel der VIN und Karzinome unterschied sich signifikant. Der in 32% der VIN und 57% der Karzinome positive p53- Nachweis zeigte die Genmutation als ein häufiges Geschehen bevorzugt der "älteren" Frauen, während eine HPV-Infektion eher den jüngeren Patientinnenanteil betraf und für deren Pathogenese verantwortlich scheint.

Ätiopathogenetische Betrachtungen sind erschwert durch eine Vielzahl möglicher Einfluß-faktoren und bedürfen umfangreicherer Untersuchungen für klare Aussagen.

Katzer, Kathrin: Vergleichende klinisch- morphologische Betrachtungen des Vulvakarzinoms und seiner Präkanzerose VIN. Halle/Saale, Univ., Med. Fak., Diss., 79 Seiten, 2005

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	Einleitung	1
2	Zielstellung	4
3	Material und Methode	5
3.1	Material	5
3.1.1	Patientenkollektiv	5
3.1.2	Gewebeproben	6
3.2	Methoden	7
3.2.1	Histologie	7
3.2.2	Immunhistochemie	8
3.2.3	Direkter und indirekter HPV-Nachweis	10
3.2.4	Statistische Auswertung	11
4	Ergebnisse	12
4.1	VIN	12
4.1.1	Häufigkeit und Altersverteilung	12
4.1.2	Klinische Daten	13
4.1.3	Operative Therapie	15
4.1.4	Histologische Daten	15
4.1.5	HPV-Status	17
4.1.6	p53- Onkoprotein und Antikörper MIB1	18
4.1.7	VIN im Verlauf	19
4.2	Vulvakarzinom	21
4.2.1	Häufigkeit und Altersverteilung	21
4.2.2	Klinische Daten	22
4.2.3	Operative Therapie	24
4.2.4	Stadien und Histologische Daten	25
4.2.5	HPV-Status	29
4.2.6	p53- Onkoprotein und Antikörper MIB1	30
4.2.7	Nachsorge	33
4.3	VIN und Vulvakarzinom im Vergleich	34
4.3.1	Häufigkeit, Altersverteilung und Trend	34

4.3.2	Daten aus Klinik, Histologie, Immunhistochemie und Virologie im Vergleich	35
5	Diskussion	37
5.1	Alter, Altersverteilung und Trend	37
5.2	Klinik	37
5.2.1	Risikofaktoren	37
5.2.2	Symptomatik	39
5.2.3	Lokalisation und Diagnostik	40
5.3	Therapie	41
5.4	Histologie	43
5.4.1	Ätiomorphologie und Tumorgruppen	43
5.4.2	Tumorangrenzende Epithelveränderungen	44
5.4.3	Die Beziehung histologischer Parameter zum Nodalstatus	45
5.5	HPV und Immunhistochemie (p53 und MIB1)	47
5.5.1	HPV	47
5.5.2	Immunhistochemie	49
5.6	VIN und Vulvakarzinom im Verlauf	52
6	Schlussfolgerungen	54
6.1	VIN und Karzinom- Karzinomfrüherkennung oder Screening ?	54
6.2	Morphegruppen- Ausdruck einer unterschiedlichen Pathogenese mit klinischer Relevanz?	56
6.3	Die p53-Mutation: (k)eine Rolle in der Pathogenese des Vulvakarzinoms?	57
7	Zusammenfassung	58
8	Literaturverzeichnis	60
9	Thesen	74

Abkürzungen und Symbole

Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex
AEC	3- Amino-9-Ethylcarbazol
Aq. dest.	Aqua destillata; destilliertes Wasser
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CIN	Zervikale intraepitheliale Neoplasie
CIS	Carcinoma in situ
CT	Computertomografie
DD	Differenzialdiagnose
DNA	Desoxyribonukleic acid
e.m.	extra muros
etc.	et cetera
FIGO	Federation Internationale de Gynecologie et d`Obstetrique
ggf.	gegebenenfalls
GO	Gonorrhoe
HPV	Humanes Papillomavirus
HR HPV	High risk HPV
HSV	Herpes simplex virus
ISGP	International Society of Gynecological Pathologists
IsH	in-situ Hybridisierung
ISSVD	International Society for the Study of Vulvar Disease
LK	Lymphknoten
LR	Lokalrezidiv
LR HPV	Low risk HPV
LS	Lichen sclerosus
max.	maximal
MIB1	Antikörper der Proliferationsfraktion
min	Minuten
mm	Millimeter
MR	Magnetresonanztomografie
NNVD	Nichtneoplastische epitheliale Erkrankungen der Vulva

NZN	Naevuszellnaevus
o.g.	oben genannte
od.	oder
OT	Objektträger
p53	Tumorsuppressorgen p53
Pap	Papanicolau
PBS	Phosphate-buffered Saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PE	Probeexzision
PEH	Plattenepithelhyperplasie
RR	Relatives Risiko
sog.	sogenannt
Std.	Stunden
u.	und
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
VE	Vulvektomie
VIN	Vulväre intraepitheliale Neoplasie
vs.	versus
WHO	World Health Organization; Weltgesundheitsbehörde
wt p53	wild-Typ des Tumorsuppressorgens p53
z. B.	zum Beispiel
µl	Microliter
µm	Micrometer

1 Einleitung

Das Verständnis vulvärer Karzinomerkrankungen stand aufgrund seiner niedrigen Inzidenz, des hohen Erkrankungsalters und einer verwirrenden Terminologie lange im Schatten der Forschung. Bei weitgehend stabiler Inzidenz der Karzinome zeigte sich in den letzten Jahrzehnten ein Trend zur altersmäßigen Vorverlagerung bei den Vulvakarzinomen und seiner intraepithelialen Präkanzerose, was neben anderen Faktoren mit der höheren Durchseuchung und Onkopotenz bestimmter Humaner Papillomavirustypen in Zusammenhang gebracht wird [4, 173].

Die Karzinominzidenz beträgt ca. 2/100.000 Frauen pro Jahr mit einer altersabhängigen Zunahme auf ungefähr 20/100.000 Frauen pro Jahr bei einem Alter über 70 Jahre und erreicht damit im späten Senium eine dem Zervixkarzinom vergleichbare Häufigkeit [31, 152]. Der Altersgipfel des Vulvakarzinoms liegt um das 65. Lebensjahr [152, 193]. In ca. 95% handelt es sich um ein Plattenepithelkarzinom [63, 194].

Die Vulvären Intraepithelialen Neoplasien (VIN) als definierte Präneoplasien mit einem Entartungspotential bis 10% zeigen bei den erkrankten Frauen bis zum 50. Lebensjahr neben der o.g. Altersvorverschiebung auf 35-45 Jahre eine Inzidenzverdopplung [8, 32, 44, 47, 61, 81, 127, 197].

Während die Ursache des Vulvakarzinoms und seiner Vorstufe nach wie vor unklar ist, wird angesichts zahlreicher Risikofaktoren von einer multifaktoriellen Ätiologie ausgegangen.

Die sexuell übertragbaren humanen Papillomaviren spielen dabei eine essentielle Rolle, wenn auch die Beziehung von HPV und Karzinogenese im Vergleich zur Zervix nicht so streng erscheint [6, 62]. Eine Zunahme der Promiskuität und frühzeitiger Sexualkontakte findet Ausdruck in einer hohen viralen Durchseuchung mit Anstieg HPV-assoziiertes Genitalerkrankungen bei jüngeren Frauen [57, 60, 62, 160]. HR HPV werden in 80% bei der VIN und in bis zu 60% beim Vulvakarzinom gefunden [6, 15, 37, 52, 62, 122, 132, 155, 185]. HPV allein ist nicht imstande zur Initiation und Progression eines Vulvakarzinoms. Es bedarf Kofaktoren in der Pathogenese. Zur Entstehung von malignem Epithel infolge erhöhter Chromosomeninstabilität und Mutation führen zwei molekulare Prozesse, die HPV-induzierte Onkogenaktivierung und die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen wie z.B. p53 [180, 201]. Die Bedeutung der Mutation von p53 in der vulvären Karzinogenese ist unzureichend untersucht [86, 94, 106, 119, 157]. Eine gestörte Immunkompetenz sowie Nikotinabusus sind wichtige Risikofaktoren [35, 45, 80, 137]. Frauen mit anamnestischer Zervix-, Vulva- oder

Vaginalneoplasie stellen eine Risikogruppe für die Entwicklung anogenitaler Zweitkarzinome dar [68, 124, 127, 167]. Chronische Entzündungen, nichtneoplastische Erkrankungen oder rezidivierende mechanische Kratzläsionen der Vulvahaut spielen unabhängig vom HPV als Langzeitirritation eine karzinogenetische Rolle [6, 27, 31, 49, 151]. Die Zunahme genetischer Hautalterationen mit Altersanstieg verdeutlicht auch das Lebensalter als Risikofaktor [32].

In der Pathogenese des Vulvakarzinoms und der VIN wird aufgrund einer unterschiedlichen Bedeutung des HPV vom Vorliegen zweier epidemiologisch, ätiologisch, histopathologisch sowie prognostisch verschiedener Entitäten ausgegangen [138, 193]. Zum einen gibt es die jüngere Frau mit histologisch meist undifferenziertem, basaloid-warty Tumorsubtyp, der häufig multifokal und HPV assoziiert an der Vulva auftritt und bevorzugt mit multizentrischer Anamnese einhergeht. Zum anderen existiert die ältere Frau mit überwiegend unifokal wachsendem Vulvakarzinom oder VIN vom differenzierten verrukösen Subtyp und eher seltenem HPV-Nachweis [3, 31, 68, 101, 180-2].

Die Symptome der VIN und Vulvakarzinome wie z.B. chronischer Pruritus, Brennen oder Mißempfindungen im Vulvabereich sind uncharakteristisch [8, 44, 71, 80, 152]. Diagnoseverzögerungen durch Asymptomatik insbesondere der VIN und durch abwartendes Verhalten über ein Jahr trotz Beschwerden in ca. 40% der Fälle sind häufig [32, 175]. Bei doch gehäuft multifokalem und multizentrischen Auftreten sollte die gynäkologische Inspektion neben der Suche nach Hautveränderungen der Vulva die Perianal-/ Periurethralregion sowie Vagina und Zervix mit umfassen. Das makroskopische Bild ist oft unspezifisch und reicht von weißen (ehemals sog. "leukoplaken") über erythematöse bis zu bräunlichen Arealen. Palpatorische Erhabenheiten wie Verdickungen und Verhärtungen sowie Ulzera sind verdächtig. Die Palpation der Leisten, Beckenwand und Nachbarorgane gehört zur gynäkorektalen Untersuchung, um eine mögliche LK-Metastasierung festzustellen [63].

Vulvakarzinome wachsen in fast 80% im Labienbereich, gefolgt in jeweils ca. 10% von Klitoris und Perineum [7, 72, 158]. Die klinische Diagnose ist vulvoskopisch unter Hilfe von Essigprobe, Collins-Test und Zytologie gezielt durch Stanzbiopsie der repräsentativen Areale abzuklären [57, 160].

Am stärksten prognosebestimmend ist das Stadium. Das Fünfjahresüberleben spreizt sich stadienabhängig zwischen 87% im Stadium I und 22% im Stadium IV. Bei Lymphknotenbefall überleben lediglich 60% der Patientinnen die nächsten 5 Jahre, Frauen ohne Metastasen in 90% [17-8, 66-7, 95, 102, 113, 152, 169, 182-3]. Differenzierungsgrad, Wachstumsmuster, lympho- plasmazelluläre Infiltration, Lymph-Gefäßeinbruch und Absetzungsrand sind prognostisch relevant [1, 18, 36, 59, 67, 73, 95, 102, 113, 127, 147, 152-

4, 169]. Die Bedeutung der histologischen Subtypen, der Multifokalität und angrenzender Epithelveränderungen beim Vulvakarzinom und der VIN sind bisher wenig untersucht [68, 80, 100-1, 147, 154]. Die Rolle des Tumorsuppressorgens p53 als „Wächter des Genoms“ sowie der Proliferationsindizes MIB1 und Mitoserate in ihrer Wachstumskontrollfunktion bedürfen bei der VIN und beim Plattenepithelkarzinom der Vulva noch weiterer Erforschung bezüglich ihrer pathogenetischen und prognostischen Relevanz [51, 65, 85, 119, 126, 157, 165]. Zur HPV-Infektion als Prognosefaktor bei den Vulva(prä-) neoplasien gibt es konträre Aussagen [3, 6, 16, 20, 68-9, 71, 88, 128, 132, 134]. Die Prognose hängt letztlich entscheidend von der Tumorbiologie ab und wird durch das Zusammenspiel klinischer und histologischer Charakteristika bestimmt. Nach wie vor ist die Tumorbiologie des Vulvakarzinoms und seiner Vorstufen unklar.

Unter Berücksichtigung der lokalen und lymphnodalen Tumorausbreitung sowie des Alters der Frau ist die radikale Vulvektomie mit ein- oder beidseitiger inguinofemoraler Lymphonodektomie die Therapie des invasiven Vulvakarzinoms. Die in den letzten Jahren eingeschränkt radikalen stadiengerechten Verfahren reduzieren bei gleicher therapeutischer Sicherheit das Operationsrisiko, die postoperativen Komplikationen und die psychosexuelle Belastung [115, 118, 148]. So rechtfertigt das unifokale, mikroinvasive Karzinom die Lokalexzision mit Lymphadenektomieverzicht und streng einseitige Lokalisationen im FIGO I die lediglich ipsilaterale Lymphonodektomie, sofern diese im Schnellschnitt tumorfrei sind. Die Sentinel-LK-Biopsie beim Vulvakarzinom hat ebenfalls die Minimierung der Morbidität zum Ziel, zumal nur $\frac{1}{3}$ der entfernten LK tatsächlich Metastasen aufweisen. Die kombinierte Therapie von Operation mit Radio-und/oder Chemotherapie ist in besonders fortgeschrittenen Fällen sinnvoll [17, 58, 91, 98, 104]. Angesichts der geringen Progressionsrate der VIN zum Karzinom sind schonende und funktionserhaltende Verfahren wie Laservaporisation, Lokalexzision, Photodynamik und ggf. "Skinning"- Vulvektomie die Methoden der Wahl [7, 14, 63-4, 74, 141, 162]. Rezidivraten bis zu 50% unterstreichen die Bedeutung einer guten und engmaschigen Nachsorge der Frauen mit VIN und Vulvakarzinom [11, 200].

2 Zielstellung

In einer retrospektiven Analyse wurden 111 Vulvakarzinome und 23 VIN im Krankengut der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg über einen 12-Jahreszeitraum unter dem Aspekt ihrer Klinik, Pathomorphologie und ihrem weiteren Verlauf untersucht.

Aufgrund wiederholter Nomenklaturänderungen der Vulvakrankheiten in den letzten zwei Jahrzehnten war es unter anderem die Aufgabe, durch eine retrospektive histologische Reklassifikation zur Standardisierung und Vergleichbarkeit mit anderen Untersuchungen beizutragen. Die in Studien beobachtete Zunahme der Inzidenz der Vulvären Intraepithelialen Neoplasien (VIN) sowie die Verschiebung ins zunehmend jüngere Alter bei der VIN und beim Vulvakarzinom waren Anlass zu vorliegenden Betrachtungen. Lassen sich im Krankengut über einen Beobachtungszeitraum von 12 Jahren tendenzielle Änderungen in Alter und Anzahl erkennen?

Ein Ziel dieser Arbeit war es, die Hypothese zweier ätiologisch/ epidemiologisch/ pathologisch sowie prognostisch unterschiedlicher Subkollektive beim Vulvakarzinom und der VIN am eigenen Patientengut zu prüfen. Unter dieser Fragestellung erfolgte der Versuch, die Vulvakarzinome und Dysplasien entsprechend histomorphologischer Kriterien in Subtypen zu differenzieren [101, 180]. Zu klärendes Ziel war, ob verschiedene ätiologische Entitäten und Risikoprofile der Plattenepithelkarzinome und VIN unterscheidbar existieren und zu diskutieren sind. Welche der in der Einleitung erwähnten klinisch-anamnestischen Risikofaktoren Einfluß im eigenen Krankengut hatte, sollte eruiert werden.

Die histologische Aufarbeitung der VIN und Vulvakarzinome erfolgte unter besonderer Beachtung der tumorangrenzenden Epithelveränderungen als prädisponierender „Boden“ der malignen Transformation. Die Analyse der HPV-Infektion durch Histologie und IsH sowie der p53-Genmutation und Proliferation durch Immunhistochemie sollte auch im Vergleich von VIN und Vulvakarzinom unter dem Aspekt der o.g. Hypothese betrachtet werden.

Letztendliches Ziel der Erforschung von Einflußfaktoren sollte ein besseres Verständnis der Ätiopathogenese der Vulvakarzinome der Vulva und seiner Präkanzerosen sein, um Risikogruppen und entsprechende Therapie definieren zu können und im Rahmen der gynäkologischen Vorsorge- und Früherkennungsuntersuchung eine Prävention, wenn auch nur sekundäre zu versuchen.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von 1984-1995 wurden insgesamt 308 Frauen mit Vulvaveränderungen in der Klinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg primär operiert.

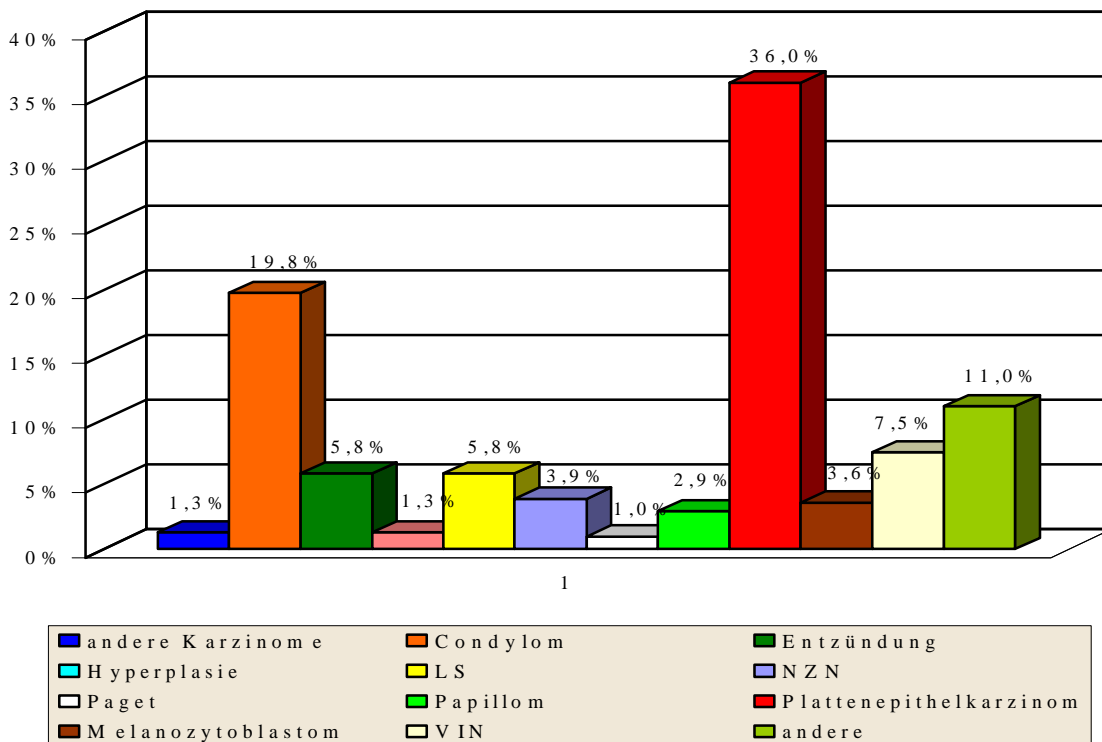


Abb. 1: histologische Diagnosen der gesamten Vulvaveränderungen im Zeitraum

Im 12-Jahresabschnitt kamen 23 VIN und 111 plattenepitheliale Vulvakarzinome zur Auswertung. Auswärtig ausgedehnt voroperierte Primärbefunde und deren Rezidive sowie Rezidivfälle von vor 1984 primär operierten Tumoren aus unserer Klinik wurden nicht berücksichtigt. Die nichtepithelialen Tumore wurden in der Auswertung nicht mit erfasst.

Anhand der Ambulanz- und Krankenakten wurden die Daten der Anamnese, Klinik und Therapie sowie die Tumornachsorgedaten bis einschließlich Ende 2000 erfasst. Die Mehrzahl der Frauen wurde in der Tumornachsorgesprechstunde der Universitätsfrauenklinik betreut. Fehlende Nachsorgedaten wurden in wenigen Fällen durch Anschreiben der nachsorgenden Ärzte/ Kliniken ermittelt.

3.1.2 Gewebeprobe

Die archivierten histologischen Schnitte der Operationspräparate und Biopate wurden nachuntersucht und die Diagnosen älterer Nomenklaturen wie „Dystrophie“ und „M.Bowen“ sowie deskriptive Begriffe wie „Kraurosis vulvae“ und „Leukoplakie“ reklassifiziert. In wenigen bereits außerhalb durch PE oder Teilexzision diagnostizierten Fällen wurden die Gewebelöckchen/ Schnittpräparate sowie Histologieberichte angefordert und nachbefundet. Zur Virusdiagnostik kamen 25 Paraffinblöckchen von 19 Patientinnen (Tabelle 1) und zur immunhistochemischen Analyse Blöckchen von 66 Fällen (19 VIN2/3 und 47 Karzinome).

Tabelle 1: in-situ Typisierung in 19 Fällen (n=25 Gewebe, davon 12 VIN/ 8 Karzinome)

Nr	Anamnese	Histologie	HPV-Infektion		Verlauf
			Histo	isH-Typ	
1	seit 78: rez. Condylome 83: CIS	86: VIN3	ja	16	bis 96: 4 LR, dann wg. MS->Therapieabbruch
		89: VIN3	ja	16	
2	84: VIN2	82: VIN1 (Condylom)	ja	6,18	1 LR nach Radiatio, Tod am Tumor
		90: Karzinom, FIGO IV	ja	6,11	
3		91: CIS	ja	negativ	91-98: 1LR
		91: VIN3	ja	negativ	
4	76: GO, 87: Condylome	90: VIN3 (1.LR)	ja	negativ	84-92: 2LR
5	Diabetikerin	86: VIN3	ja	negativ	86: Radiatio, bis 95: 1LR 95: Tod nicht am Tumor
		92: VIN3	ja	6,11,16,18	
6		89: VIN3	ja	6,11	89-97: 1LR
7	80: CIS	91: VIN3	ja	16,18	unbekannt
8		89: VIN3	ja	16	89-2000: 4LR
9		94: VIN3	ja	negativ	unbekannt
10	93: Condylome	93: CIS	ja	16	95-99: 2LR
		95: VIN3	ja	16,18	
11	85: CIN II, Kraurosis	90: Karzinom, FIGO III	nein	negativ	92: M1, Tod am Tumor
12	91: Vulvabefund!	95: Karzinom, FIGO II	ja	16	95-98: 1LR
13		89: LS	nein	6,11,16,18	bis 96: rezidivfrei
		91: Karzinom, FIGO II	ja	negativ	
14		87: Lichen ruber (e.m.)	nein	18	90: Basalzellkarzinom
15	Diabetikerin	93: LS	ja	negativ	96: Vulvakarzinom
16	92: CIN I	94: Karzinom, FIGO IV	nein	negativ	94: M1, Tod am Tumor
17	83: Vulvitis	87: Karzinom, FIGO II	nein	negativ	bis 98: rezidivfrei
18		91: Karzinom, FIGO II	nein	negativ	bis 2000: rezidivfrei
19	88: Condylom, Vulvitis	89: Karzinom, FIGO Ib	ja	18	bis 92: rezidivfrei

3.2 Methoden

3.2.1 Histologie

Alle histologischen Präparate wurden entsprechend nachfolgenden Parametern von der Autorin retrospektiv analysiert und befundet sowie durch einen erfahrenen Pathologen (Herrn Chefarzt PD Dr. med. habil. J. Buchmann, Institut für Pathologie des Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dörlau gGmbH) nachbefundet.

Die Nomenklatur der vulvären Epithelveränderungen erfolgte entsprechend der WHO-Klassifikation von 1994 nach ISSVD und ISGP [164]. Basierend auf Operations- und Histologiebefunden erfolgte die Stadieneinteilung entsprechend den FIGO-Empfehlungen [139] und der damit identischen 5. Auflage der TNM-Klassifikation der UICC [196].

Die VIN werden nach dem Dysplasiegrad in VIN1-3 klassifiziert. VIN1 zeigt Dysplasien im basalen Epithel, VIN2 bis ins mittlere Drittel und VIN3 umfaßt schwere Zellatypien bis einschließlich oberes Drittel.

Als *Tumordiameter* galt die größte Ausdehnung gemessen im oder parallel zum Hautniveau und wurde nur bei nicht repräsentablen Schnitten (große Tumore) durch den makroskopisch-klinischen Befund ermittelt.

Die Vulvakarzinome wurden entsprechend den 3 *Karzinomtypen* nach Kurman und Toki als basaloider, warty sowie verruköser Typ zugeordnet [101, 164, 180]. Das verruköse (auch verhornende oder differenzierte) Karzinom zeigt gut differenzierte Zellen mit Akanthose, rundlich vergrößerte Zellkernen und prominenten Nukleoli. Das Karzinom hat basal plumpe, scharf abgegrenzte Epithelzapfen mit lokal aggressivem Wachstum und minimaler Metastasierungstendenz. Die runden Epithelnester sind peripher wenig mitotisch aktiv und im Zentrum stärker verhornt [5]. Die basaloiden Karzinome bestehen überwiegend aus Nestern kleiner, wenig differenzierter Basalzellen mit moderater Mitoseaktivität, relativ uniformem Zellkern und spärlichem Zytoplasma. Die kondylomatösen (warty) Karzinome sind von papillärem Wuchs mit hyperkeratotischer Oberfläche und mittelreif-großzelliger Epitheldifferenzierung. Kernpolymorphie, -vergrößerungen und hyperchromasie sind neben zytoplasmatischer Vakuolisierung häufige Bilder [73, 101].

Die Differenzierung in warty und basaloiden VIN (auch undifferenzierte oder klassische VIN genannt) sowie in differenzierten Typ war bei geringer Fallzahl nicht klar und eindeutig möglich und erfolgte deswegen nicht [32, 54, 194, 198].

Die *Tumordicke* war entsprechend der Methode B/C von Wilkinson das Maß von der Tumeroberfläche bis zum tiefsten Invasionspunkt [193].

Die *Invasionstiefe* nach der international akzeptierten Methode von Wilkinson beschreibt den Abstand zwischen der angrenzend oberflächlichsten dermalen Papille in der Epithel-Stroma-Grenze und dem tiefsten Punkt der Tumorinvasion [103, 193].

Der *Differenzierungsgrad* des Karzinoms wurde entsprechend den Kriterien von Broders und nach FIGO in Grad 1-3 (gut- mäßig-schlecht) eingeteilt [95, 194-5].

Das Tumorstadium wurde beurteilt nach *Fokus* (uni-multifokal) und *Wachstumsmuster* an der Invasionsfront (kompakt, diffus oder gemischt beide Anteile).

Das Ausmaß der *lymphoplasmazellulären Stromainfiltration* an der Invasionsfront sowie die *Mitoserate* als Anzahl der Mitosefiguren wurden graduiert in gering, mäßig und stark..

Als *Desmoplasie* bezeichnet man die peritumorale Bindegewebsproliferation mit drei Intensitätsstufen gering, mäßig und stark.

Bei *Lymph-Gefäß-Einbruch* sind Tumorverbände in Lymph- /Blutgefäßen vorhanden.

Das Vorhandensein von *Nekrose und Ulzeration* des Tumors wurden beurteilt.

Der *Absetzungsrand* im Schnittpräparat und aus dem histologischen Befundbericht wurde ermittelt. Neben invasivem Tumor und tumorfreiem Resektionsrand wurde auch das Vorhandensein von VIN bewertet.

Das unmittelbar *tumorangrenzende* Plattenepithel in den verfügbaren Schnittpräparaten wurde entsprechend der Einteilung der ISSVD beurteilt.

Der *inguinale Lymphknotenbefall* als Tumorgewebe in den exzidierten LK wurde als vorhanden (ein- /beid- oder gegenseitig), nichtvorhanden oder unbekannt eingestuft.

3.2.2 Immunhistochemie

Die immunhistochemischen Untersuchungen zur p53-Proteinexpression und zur Proliferationsaktivität erfolgten an formalinfixiertem und paraffin-eingebettetem Material nach der ABC- Methode [70]. Verwendet wurden die folgenden monoklonalen Antikörper: *Maus-Antikörper p53-Protein Do-7* (Klon Do-7, Firma Dako A/S, Denmark) zum Nachweis des p53-Proteins, reagiert mit wildtyp und mutiertem p53; *MIB1* (Klon MIB-1, Firma Dianova, Hamburg) gegen rekombinante Teile des Ki-67-Antigen, daß in allen aktiven Zellzyklusstadien exprimiert wird. MIB1 wurde ausgewählt wegen des sicheren Proliferationsnachweises auch an archiviertem Gewebe.

Die 2-3µm dünnen Paraffinschnitte werden mit Poly-e-Lysin silanisiert und für drei Stunden bei 60°C inkubiert. Im Anschluß wird vor dem Färbebeginn mit Xylen entparaffiniert und in absteigender Ethanolreihe (96-50%) sowie in Aq. dest. rehydriert. Dann werden die Schnitte zur Verbesserung der Antigenität in eine Plastikkuvette mit 0,1 molaren Natriumzitatpuffer (pH 6,0) überführt und bei max. 600Watt für 6 mal 5 min erhitzt (Erhöhung der Anzahl von 3 auf 6 Mikrowellenbehandlungen von je 5 min mit deutlich verlässlicherer und wiederholbarer Expression) [12]. Die anschließende Abkühlungszeit der Proben betrug 15-20 min bei Raumtemperatur. Zwischem dem Abspülen der Proben in der Küvette mit Aq. dest. je 5 min geschah die Hemmung der endogenen Peroxidaseaktivität mit Wasserstoffperoxidlösung (3%). Zum weiteren Versuchsablauf wurde der kommerzielle ABC-Kit (Vectastain, Elite-Firma, Vector Laboratory) verwendet. Nach 2 mal 3 min Eintauchen der Küvetten in PBS-Puffer werden die Schnitte für 15 min mit Rinderserum (sog. Blockierungsserum) behandelt, um unspezifische Reaktionen zu verhindern und daraufhin mit dem Primärantikörper 60 min bei 37°C inkubiert (mit PBS-Puffer verdünnt MIB1 1:10, p53 1:25). Nach erneutem Abspülen mit PBS-Puffer werden die Schnitte mit dem biotinylierten Maus-Antikörper (sekundärer AK) für 30 min in der feuchten Kammer inkubiert und wieder mit PBS gespült; mit biotinyliertem ABC-Kit 30 min bei Raumtemperatur und 30 min bei 37°C inkubiert. Nach PBS-Spülung der Schnitte erfolgt zur Anfärbung des gesuchten Antigens die AEC-Chromogenfärbung (3 Amino-9-Ethylcarbazol-Verdünnung mit Acetatpuffer 0,1 molar, Dimethylformalin, 3% Wasserstoffperoxid) für 15-40 min in der feuchten Kammer. Abschließend werden die Zellkerne durch saures Hämalaun nach Mayer gegengefärbt und nach Wässerung unter Leitungswasser mit Glyzerinchelatine nach Kaiser eingedeckt. In allen Versuchsreihen wurden Negativ- und Positivkontrollen mitgeführt. p53-Positivität zeigt eine Blaufärbung der Zellkerne und wurde aufgrund neuerer Literatur erst bei mehr als 10% Expression als positiv bewertet, da ein geringerer Prozentsatz eher nicht mutiertes Protein anzeigt [92-3, 99, 119, 142]. Die Auswertung beider Antikörper erfolgte semiquantitativ. Zur Auswertung erfolgte eine %uale Gruppierung der positiv markierten Zellkerne (0%= areaktiv, >0-10%= negativ, 11-30%= gering, 31-70%=mäßig, >70%=stark). Die positive Darstellung des MIB1 zeigt sich durch Braunfärbung der Zellkerne und wurde entsprechend dem p53-Onkoprotein %ual befundet und als areaktiv, sehr gering, gering, mäßig, stark gruppiert. Die immunhistochemische Markierung erfolgte im Immunhistochemielabor des Institutes für Pathologie der MLU Halle-Wittenberg. Die Auswertung erfolgte durch die Autorin und eine Zweidurchsicht gemeinsam mit dem erfahrenen Pathologen Herrn Prof. Dr. med. habil. H.-J. Holzhausen (Institut für Pathologie der MLU Halle-Wittenberg).

3.2.3 Direkter und indirekter HPV-Nachweis

Der direkte HPV-Nachweis erfolgte durch nicht radioaktive in-situ-Hybridisierung (ISH) mittels biotinhaltiger DNA-Proben zur Typisierung von HPV-DNA 6,11,16,18 (Firma: Biohit HPV in situ Typing Test Kat.-Nr. 610410, Helsinki). Für o.g. Test sowie in der Literatur wird für die in-situ-Hybridisierung eine Sensitivität von mindestens 25-100 Kopien/ Zelle zum Anzeigen einer HPV-Infektion angegeben [20, 50, 89, 132]. Das Prinzip besteht in der Separierung (Denaturierung) der beiden komplementären DNA-Stränge durch Temperatur- und pH-Einfluß. Die Detektion erfolgte nach der Streptavidin-Phosphatase-Methode.

Anfangs werden die Paraffinschnitte auf silanisierten BIOHIT- OT fixiert, entparaffiniert, denaturiert, acetyliert, dehydriert und luftgetrocknet. Die Schnitte werden mit ca. 25µl biotinhaltiger Sondenreagenz inkubiert und 5-8 min auf 110°C erhitzt (mit Deckgläschen) bis zum Farbumschlag von grau nach schwarz des Temperaturindikators. Anschließend wird bei 50°C in der feuchten Kammer 2 Std. oder über Nacht hybridisiert. Zur Entfernung der Deckgläschen werden die OT einzeln in 200ml Puffer B1 bei Raumtemperatur geschwenkt. Erneut alle OT gemeinsam für 3 min im Puffer B1, zweimal 3-5 min in je 200ml 60°C warmem Puffer B2 und abschließend 3 min im Puffer B1 waschen. Nach Abtrocknen der überschüssigen Feuchtigkeit um die Probe wird zur Detektion 20-25µl Detektionsreagenz auf die OT pipettiert und durch Deckgläschen abgedeckt. Dann werden sie in der feuchten Kammer 20 min bei 37°C inkubiert. Zur Entfernung der Deckgläschen werden die OT einzeln im 200ml Puffer C bei 37°C sanft geschwenkt und dann gemeinsam dreimal je 3 min in je 200ml Puffer C bei Raumtemperatur gewaschen. In einem Gemisch aus 600µl Chromogen, 1200 µl Substrat und 200ml 37°C warmem Puffer C werden die OT bei 37°C 20 - max. 45 min inkubiert, bis sich ein optimales Reaktionssignal darstellt und nachfolgend dreimal je 3 min in destilliertem Wasser gewaschen. Dann die OT für 2-4 min mit der Gegenfärbung bei Raumtemperatur inkubieren und zweimal in absolutem Alkohol je 1 Sekunde entfärben. Zum Entwässern zweimal in Xylol je 1 min tauchen und mit Depex (nichtwässrigem Medium) eindecken. Bei alternativ wässriger Eindeckung sollte vor dem Eindecken dreimal je 3 min mit destilliertem Wasser gewaschen werden. Die OT möglichst im Dunklen lagern. Die positive HPV-Anfärbung ist purpur-blau (bei wässriger Eindeckung: bräunlich) und erscheint primär in infizierten Zellkernen. Zum Ausschluß falsch positiver Befunde diente eine negative Kontrollsonde von BIOHIT (Rosa- bis Rotfärbung bei Fehlen der HPV-DNA), die die Interpretation der Hintergrundfärbung erleichterte. Als zusätzliche interne Negativkontrolle wurden 4 Serienschnitte je Sondentyp überprüft.

Je nach Kopienzahl (Testsensitivität: >25-100 Kopien/Zelle) zeigte sich eine punktuelle bis vollständige Zellkernfärbung, während echt-positive Signale im Stroma nicht auftraten. Ein vorher ausgetesteter HPV-positiver Vulvagewebeschnitt sowie ein Kontrollschnitt aus dem Kitset (CaSki-Zellen mit HPV 16 DNA) fungierten als Positivkontrollen und wurden bei jeder Versuchsreihe mitgeführt.

Beim indirekten Nachweis erfolgt die Identifikation einer HPV-Infektion nach histologischen Kriterien. Virusverdächtige histologische Veränderungen korrelierten im Rahmen von Studien relativ gut (d.h. 70%) mit den Ergebnissen molekularbiologischer Techniken und IsH [38, 48, 52, 120, 138, 171-2]. Zu den typischen histologischen Veränderungen zählen folgende:

- Zwei-/ Mehrkernigkeit [52, 54, 96, 120, 143, 172]
- Koilozytose [16, 52, 54, 133, 138, 143, 172, 191]
- Papillomatose [43, 54, 120]
- Dyskeratose, wie Parakeratose und/ oder Hyperkeratose [16, 52, 120, 143, 160]
- Hypergranulose/ Akanthose [38, 120, 133, 143, 160, 172]
- breite und verlängerte Reteleisten [138, 160, 172].

Entsprechend o.g. histologischen Parametern wurden alle Schnittpräparate auf das Vorhandensein einer HPV-Infektion durch die Autorin befundet sowie durch Herrn Chefarzt Dr. med. habil. J. Buchmann nachgesichtet. Bei Fällen mit überlappender Nachweismethode (direkt und indirekt) wurden die Ergebnisse miteinander verglichen.

3.2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Beschreibung erfolgte vorwiegend durch Prozentwerte der einzelnen Untergruppen. Desweiteren wurden Mittelwerte für stetige Variablen wie z.B. Alter angegeben. Als statistische Teste wurden der Chi-Quadrat-Test zum Gruppenvergleich von bivariaten Parametern verwendet sowie bei geringer Zellenbesetzung (geringste Besetzung unter 5) der exakte Test nach Fisher. Für stetige Variablen wurde der Student-T-Test benutzt mit vorgeschaltetem Levene-Test auf Varianzgleichheit. Eine lineare Regressionsanalyse kam zur Überprüfung der Zusammenhangshypothese zwischen Erkrankungsalter und Diagnosejahr zum Einsatz. Die Auswertungen erfolgten mit dem Programm Excel 2000 (Microsoft, Deutschland) und dem Statistikpaket SPSS Version10.

4 Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse für die VIN und das Vulvakarzinom erfolgt getrennt nacheinander und abschließend im Vergleich.

4.1 VIN

4.1.1 Häufigkeit und Altersverteilung

Im Untersuchungszeitraum von 1984-1995 wurden 23 Frauen mit VIN diagnostiziert. Das Durchschnittsalter der Patientinnen betrug zum Zeitpunkt der operativen Diagnosesicherung 48,4 Jahre (6 bis 78 Jahre).

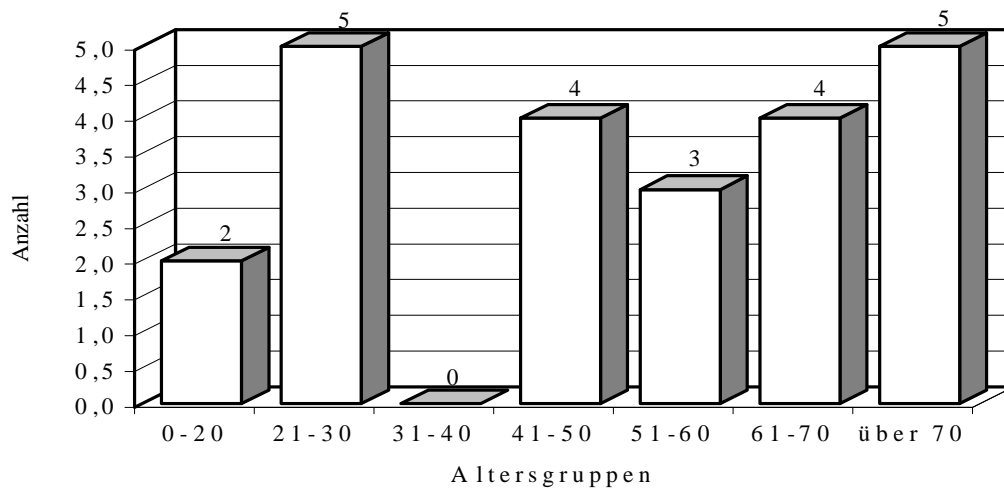


Abb. 2: Altersverteilung der VIN

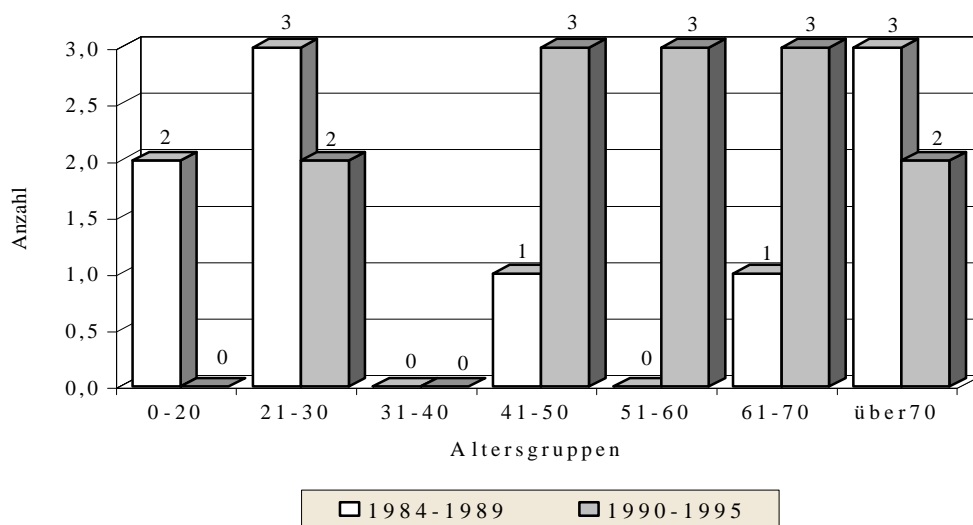


Abb. 3: Altersverteilung der VIN in den Zeitkohorten 1984-89/ 1990-95

Die Altersverteilung zeigt einen dreigipfligen Verlauf mit Häufigkeitsmaxima zwischen dem 21.-30., dem 41.-50. sowie 71.-80. Lebensjahr. 30,4% (7/23) der Patientinnen waren 30 Jahre alt und jünger, älter als 70 waren 21,7% (5/23). In den ersten 6 Jahren stellten sich 10 Frauen vor (mittleres Alter: 44,1 Jahre) und nachfolgend bis 1995 13 Frauen im mittleren Alter von 51,7 Jahre mit tendenzieller Zunahme des Anteils schwerer Dysplasien um 17% (von 60 auf 77%).

4.1.2 Klinische Daten

21,7% (5/23) der Frauen waren Raucher mit einem jüngeren mittleren Alter von 30,4 Jahren gegenüber dem Gesamtkollektiv. Eine Patientin war Diabetikerin. Die durchschnittliche Partuszahl betrug 1,6 Kinder im Gesamtkollektiv, 5 Frauen waren Nulliparae (21,7%). Bei insgesamt 21 Patientinnen (91,3%) fand sich assoziiert mindestens eine medizinische oder immunsuppressive Bedingung wie HPV-Infektion, Diabetes, Nikotinabusus, vorherige Radiatio, Hauterkrankungen/Allergie, Multiple Sklerose, Alkoholabusus mit Leberzirrhose. 17% (4/23) der Frauen hatten assoziiert ein Carcinoma in situ der Zervix, bei einer Patientin davon koinzident während es bei den anderen 2, 3 und 11 Jahre vor der Vulvaerkrankung auftrat. Das mittlere Alter der Patientinnen mit multizentrischer VIN betrug 37,7 Jahre und betraf somit den jüngeren Patientenanteil. 3 Frauen (13%) gaben in der Anamnese Genitalkondylome sowie je eine Frau eine Vulvitis und einen Lichen sclerosus an.

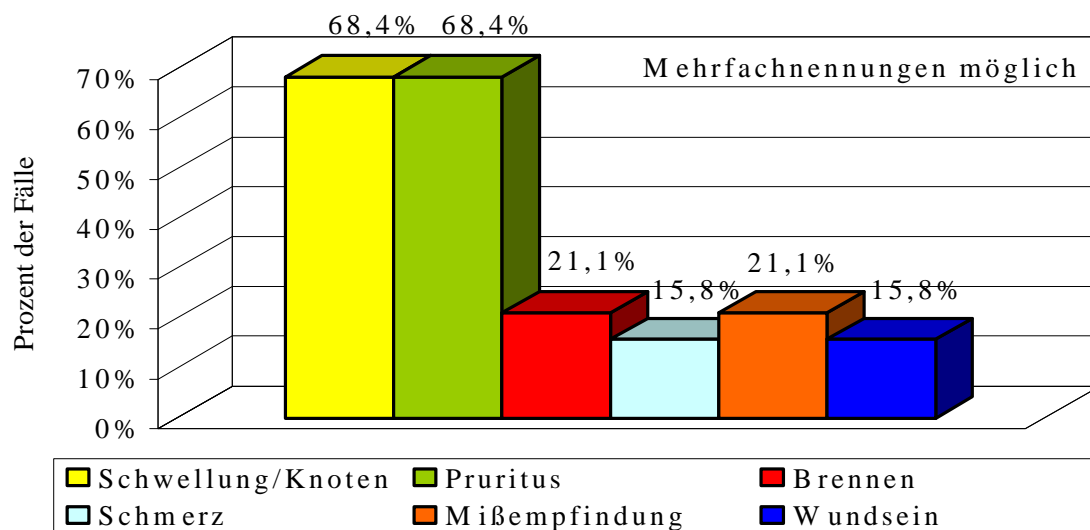


Abb. 4: Symptome der Frauen mit VIN ($n_{\text{gesamt}} = 23$)

Die Mehrheit der Frauen (82,6%) hatten Symptome, davon in 68,4% mehr als ein Symptom. In der Abbildung 4 aufgezeigt traten am häufigsten Pruritus oder eine Vulvaschwellung auf, häufig auch beides. Schmerzen traten immer nur in Kombination mit einem Vulvatumor auf, Brennen und Wundheitsgefühl der Vulva häufig mit Pruritus.

Bei 22 Frauen war der Vorstellungsgrund beim Arzt eruierbar, davon in 17 Fällen ursächlich die o.g. „Beschwerden“ und in 5 Fällen die Routineuntersuchung. Das Intervall zwischen Auftreten der Symptome und Diagnosestellung war von 17 Patientinnen bekannt. Innerhalb von 6 Monaten wurde bei 47,1% (8/17) der Frauen die vulväre intraepitheliale Neoplasie diagnostiziert. Zeiträume über 5 Jahre gaben immerhin $\frac{1}{4}$ der Frauen an, insbesondere die älteren. 3 der 9 Patientinnen mit über $\frac{1}{2}$ Jahr Diagnoseverzögerung hatten dies selbst verschuldet und sich in einem Fall über 14 Jahre hinweg lokal mit Salben behandelt ohne Arztbesuch. Andererseits lag in 6 Fällen (26,1%) die Ursache der Diagnoseverschleppung in einer inadäquaten, vorwiegend symptomatischen Therapie der Primärärzte.

Die Mehrzahl der Befunde (91,3%) waren auf den Labien lokalisiert und bevorzugten das Labium minus (64,3%). In $\frac{2}{3}$ der Fälle waren die rechten Labien betroffen. 2 weitere Patientinnen präsentierten isoliert Befunde an der hinteren Kommissur. Bei gehäuft multifokalem Auftretens der VIN in 43,5% (10/23) waren auch Introitus sowie Damm- und Analbereich betroffen. 91% der Frauen mit Multifokalität litten an einer schweren Vulvadysplasie (Tabelle 5).

Mehrheitlich mit 65,2% imponierten die VIN makroskopisch und vulvoskopisch grau-weiß, davon 13% mit aufgelagerten hyperkeratotischen Hornschollen. Nach Lösen der Keratinschuppen zeigten sich vulvoskopisch in einem Fall am „Leukoplakiegrund“ atypische Gefäße. Rötlich-ekzematöses Aussehen oder dunkle Hautpigmentierungen waren mit jeweils 13% eher seltener, während 17,4% (4/23) ohne Effloreszenzen auftraten. 10 der 23 VIN (43,5%) zeigten eine lokal beetartige Hauterhebung und 7 wiesen zusätzlich eine kondylomatöse oder warzenähnliche Oberfläche auf. Die Befunde wurden bioptisch abgeklärt, bei Multifokalität durch mehrere PE's. 30,4% (7/23) der VIN waren klinisch als nicht maligne Hautveränderungen im Sinne einer „Kraurosis“, Kondylomatose, Verruca oder als Lichen sclerosus fehleingeschätzt worden.

Ein Fall zeigte koexistent zum Vulvabefund eine suspekta Portio mit auffälligem Abstrich. In 2 von 4 Fällen ergab die durchgeführte Zytodiagnostik einen unklaren Befund (Pap III).

Zur gezielten Biopsie oder partiellen Teilexzision wurde die Toluidinblau-Probe diagnostisch eingesetzt.

4.1.3 Operative Therapie

In der Primärtherapie dominierte die wide excision, zusätzlich ab 1994 kam die Laservaporisation in der Primär- und Rezidivbehandlung zum Einsatz. In den 4 Fällen mit eingeschränkter oder einschließlich einfacher Vulvektomie handelte es sich um multifokale VIN, die zu 75% rezidierten. 33,3% der VIN mit wide excision rezidierten in der Nachsorge, davon hatten 75% dysplastisches Epithel im Absetzungsrand nachweisbar. Ein Zusammenhang zwischen OP-Methode und Rezidivrate ließ sich nicht erkennen.

Tabelle 2: Operationsmethoden der VIN- Patientinnen (n_{gesamt} = 23)

(* 1x wegen schlechtem Allgemeinzustand, 1x VIN2 mit engmaschiger Nachkontrolle)

primäre Operationsmethode	Anzahl	%
lokale Tumorexzision (wide excision)	17	73,9
lokale Tumorteilexzision (einschließlich PE)	2*	8,7
eingeschränkte Vulvektomie (einschließlich Laservaporisation)	4	17,4
Summe	23	100

4.1.4 Histologische Daten

Die Reklassifikation der histologischen Befunde erfolgte nach aktueller Nomenklatur.

Tabelle 3: Reklassifikation der VIN (n_{gesamt} = 23)

Anzahl	frühere Nomenklatur	Anzahl	aktuelle Nomenklatur
3	VIN1	3	VIN1
1	VIN2	4	VIN2
1	atypische hyperplastische Dystrophie		
2	hyperplastische Dystrophie mit Dysplasie		
3	Kraurosis	16	VIN3
1	atypische hyperplastische Dystrophie		
1	hyperplastische Dystrophie mit Dysplasie		
1	Karzinom		
9	Morbus Bowen/ Bowenoide Dysplasie		
1	Erythroplasie		

Mit zunehmendem Dysplasiegrad stieg die durchschnittliche Tumorgröße und die Rezidivrate kontinuierlich an, wofür zum Teil auch die Multifokalität der hochgradig dysplastischen

Veränderungen verantwortlich ist. In 47,8% verlief der Resektionsrand im dysplastischen Epithel, insbesondere bei den multifokal auftretenden, metrisch größeren VIN3 (Tabelle 4).

Tabelle 4: VIN- Grad, Tumorgröße, Absetzungsrand und Rezidive (n_{gesamt} = 23, davon n= 18 in Nachsorge)

Anzahl	Tumor	mittlere Tumorgröße	Absetzungsrand positiv (%)	Nachsorge	Rezidiv (%)
3	VIN1	8,5	1 (33,3)	1	0 (0)
4	VIN2	18,2	1 (25)	3	1 (33,3)
16	VIN3	19,4	9 (56,3)	14	8 (57,1)
23	VIN1-3	18,2	11 (47,8)	18	9 (50)

Wie in nachfolgender Tabelle 5 erkennbar fanden sich deutliche Unterschiede bezüglich Fokus/ Zentrität der VIN. Die Frauen mit multifokaler und/oder multizentrischer VIN (zu 91% VIN3) waren rund 16 Jahre jünger als die Patientinnen mit unifokal/ -zentrisch wachsender VIN bei nahezu gleicher Anzahl in beiden Gruppen. In der multifokal-multizentrischen VIN-Gruppe waren knapp die Hälfte Raucherinnen gegenüber 100% Nichtraucheranteil in der anderen Gruppe. Weitere interessante Unterschiede ergaben sich zwischen beiden Gruppen bei der Anamnese Genitalkondylome, beim Anteil an hochgradiger Dysplasie, positiven Absetzungsrand und Verlauf.

Tabelle 5: Vergleich der multifokal und/oder multizentrischen VIN- Gruppe gegenüber der unifokal/ -zentrischen VIN- Gruppe (n_{gesamt} = 23, davon n= 18 in Nachsorge)

klinische/ histologische Parameter	multifokal/-zentrisch		unifokal/-zentrisch	
mittleres Alter (Jahre)	40		56	
Anzahl	11	100%	12	100%
Anzahl <= 40 Jahre	6	55%	1	8%
Rauchen	5	45%	0	0%
Diabetes	0	0%	1	8%
anamnestisch Kondylome	3	27%	0	0%
VIN3	10	91%	6	50%
HPV positiv	9	82%	8	67%
Absetzungsrand positiv	7	64%	5	42%
Anzahl in Nachsorge	10	100%	8	100%
Rezidiv	6	60%	3	38%
mittlere Rezidivanzahl	1,4		0,4	
rezidivfreie Zeit _{minimale} (Monate)	12		26	

Tumorangrenzendes Epithel war bei 20 VIN histologisch beurteilbar (Tabelle 6). Über die Hälfte der VIN (55%) wiesen dysplastisches Epithel angrenzend auf. In ¼ der VIN war angrenzend NNVD im Sinne einer Plattenepithelhyperplasie bzw. eines Lichen sclerosus nachweisbar. Der LS trat bevorzugt isoliert auf und nur in einem Fall mit peritumorale Dysplasie, während die Hyperplasie immer mit peritumorale VIN kombiniert war. Patientinnen mit angrenzender Dysplasie waren über 20 Jahre jünger als die Frauen mit angrenzendem LS und rezidierten häufiger. Multifokales Wachstum der Präkanzerosen war überdurchschnittlich mit peritumoral vorhandener VIN verbunden, während sich bei peritumoralem LS oder normalem Plattenepithel überwiegend unifokales Wachstum zeigte.

Tabelle 6: Angrenzendes Epithel der VIN in Korrelation mit mittlerem Alter, Fokus und Rezidiv (n_{gesamt} = 20, *n=16 Nachsorgepatientinnen, ' lediglich Lichen sclerosus)

angrenzendes Epithel	Anzahl	%	mittlere Alter (Jahre)	multifokal/-zentrisch	unifokal/-zentrisch	Rezidiv*
nur normal u/o Atrophie	6	30	54	17%	83%	25% (1/4)
nur NNVD '	3	15	67	0%	100%	50% (1/2)
nur NNVD und VIN	2	10	45	50%	50%	0% (0/2)
nur VIN	9	45	45	89%	11%	63% (5/8)
Summe	20	100				

4.1.5 HPV-Status

Der histologische Virusverdacht wurde durch die Ergebnisse der in-situ Hybridisierung komplettiert. Die IsH ergab eine Infektionsrate von 67% (8/12) bei den Präneoplasien und war vergleichbar mit dem anhand histologischer Merkmale eruierten Infektionsstatus von 74% (17/23). Alle 8 HPV positiv typisierten VIN waren histologisch ebenfalls als verdächtig eingestuft worden. Die Hälfte der Virusinfektionen trat als Mischinfektion von 2 und mehr HPV-Typen auf, während in 7 der 8 positiv typisierten VIN die onkogenen „Hochrisiko-Typen“ 16 u./ od. 18 gefunden wurden. In einem Fall war lediglich HPV 6 nachweisbar.

Wie aus Tabelle 7 erkennbar unterschied sich das mittlere Alter der HPV infizierten VIN nicht von den HPV negativen. Raucherinnen waren in beiden Gruppen deutlich jünger gegenüber ihrer Gesamtgruppe. Sowohl histologisch als auch in der IsH fand sich bei 26,1% (6/23) der über 60-Jährigen im Primärbefund eine HPV-Infektion. Die virusinfizierte VIN trat häufiger multifokal/ -zentrisch auf mit im Vergleich peritumoral seltener Normalgewebe. Eine p53-Überexpression war in der nichtinfizierten Gruppe doppelt so häufig vorhanden wie in

der infizierten. Bei simultanem Auftreten von HPV-Infektion und p53-Mutation traten in 100% im weiteren Verlauf Rezidive auf, bei alleiniger HPV-Infektion ohne p53-Mutation nur in 30%. Bei vergleichbarem Absetzungsrand rezidierten die virusinfizierten VIN seltener aber früher als die HPV-negativen, über 80% innerhalb der ersten 3 Jahre.

Tabelle 7: Korrelation von HPV der VIN mit Alter, klinikopathologischen Charakteristika und Rezidiv (n_{gesamt} = 23, #n= 20 mit angrenzendem Gewebe, §n= 19 mit p53/ MIB1-Untersuchung, *n= 18 Nachsorgepatientinnen)

klinische/ histologische Parameter	HPV positiv	HPV negativ
Anzahl	17	6
mittleres Alter (Jahre)	49	48
multifokal u./od. -zentrisch	9 (53%)	2 (33%)
Absetzungsrand positiv	8 (47%)	3 (50%)
Raucher	3 (18%)	2 (33%)
mittleres Alter der Raucher (Jahre)	28	35
angrenzendes Gewebe #, davon	15	5
-nur VIN	7 (47%)	2 (40%)
-nur LS	2 (13%)	1 (20%)
-nur normales PE	4 (27%)	2 (40%)
Untersuchung auf p53/ MIB 1 §, davon	15	4
-p53 positiv (p53>10%)	4 (27%)	2 (50%)
-hoch proliferativ (MIB 1>30%)	6 (40%)	1 (25%)
Nachsorge*, davon	14	4
-Rezidiv: ja	6 (43%)	3 (75%)

4.1.6 p53- Onkoprotein und Antikörper MIB1

Rund $\frac{2}{3}$ der untersuchten 4 VIN2 und 15 VIN3 zeigten keine p53-Überexpression und eine (sehr) geringe Proliferationsaktivität. 32% (6/19) waren p53 positiv, eine VIN davon mit mäßiger Expression (>30%). In keinem Fall fand sich im unauffälligen Plattenepithel oder NNVD angrenzend zur VIN eine positive Onkogenexpression, lediglich in einem Fall in dysplastischem Epithel. P53 exprimierte ähnlich wie MIB1 in den unreifen Basal- und Parabasalzellen bei normalem bis gering dysplastischem Epithel mit Expressivität der höheren Epithelschichten in VIN2-3.

Die Frauen mit positiver p53-Onkogenexpression in der VIN waren unabhängig vom HPV-Infektionsstatus um 22 Jahre älter als bei Negativität. Eine "Koexpression" von p53 und HPV fand sich in 21,1% (4/19), die zu 100% im Verlauf rezidierten. Die p53-positiven VIN

zeigten tendenziell seltener eine zusätzliche Virusinfektion und eine prozentual gering höhere Expression des Proliferationsmarkers MIB1, d.h. waren schneller wachsend und rezidierten fast doppelt so häufig wie die p53-negativen. Die 7 VIN (36,8%) mit höherer Proliferation waren alle hochgradig dysplastisch und zeigten prozentual häufiger eine p53-Überexpression sowie HPV-Infektion und rezidierten erwartungsgemäß häufiger, früher (Erstrezidive innerhalb der ersten 3 Jahre) und mit einer mittleren Frequenz von 3,3 gegenüber VIN mit niedriger MIB1-Expression (mittlere Rezidivrate 1). VIN mit p53-Überexpression u./od. hoher Zellproliferation rezidierten in 67-100% der Fälle. Bei p53-Überexpression und einer MIB1-Expression in über 30% der Tumorzellen kam es in 100% zum Rezidiv.

Tabelle 8: Korrelation von p53 der VIN mit Alter, klinikopathologischen Charakteristika und Rezidiv ($n_{\text{gesamt}} = 19$ mit p53-Untersuchung, $*n = 16$ in Nachsorge)

	p53 positiv	p53 negativ
Anzahl	6	13
mittlere Alter (Jahre)	67	45
HPV-Infektion	4 (67%)	11 (85%)
MIB1: 0-30%	3 (50%)	9 (69%)
p53 positiv angrenzend	1 (20%)	0 (0%)
Nachsorge*, davon	4	12
-Rezidiv:ja	3 (75%)	5 (42%)

Tabelle 9: Korrelation von MIB1 der VIN mit Alter, klinikopathologischen Charakteristika und Rezidiv ($n_{\text{gesamt}} = 19$ mit MIB1-Untersuchung, $*n = 16$ in Nachsorge)

	MIB1: 0-30%	MIB1: >30%
Anzahl	12	7
mittlere Alter (Jahre)	55	46
HPV-Infektion	9 (75%)	6 (86%)
p53 positiv	3 (25%)	3 (43%)
Nachsorge*, davon	11	5
-Rezidiv:ja	5 (45%)	3 (60%)

4.1.7 VIN im Verlauf

18 der 23 Frauen mit VIN verblieben im Durchschnitt 69,7 Monate (2 Monate bis 11 Jahre) in der Nachsorge. Bei 50%, bevorzugt VIN3, traten im Verlauf ca. 1,8 Rezidive ausschließlich lokal auf. Das rezidivfreie Intervall lag im Durchschnitt bei 50,7 Monaten. Rezidive traten

frühestens 12 Monate nach Primärtherapie auf, 44,4% der Rezidive wurden innerhalb der ersten 1 ½ Jahre und 22,2 % später als 7 Jahre nach Erstbefund diagnostiziert. In Tabelle 10 sind die Unterschiede zwischen rezidivierender und rezidivfreier VIN dargestellt. Die Frauen mit Rezidiv waren im Mittel 4 Jahre älter mit jedoch höheren Anteil an jüngeren Frauen. Unabhängig vom Absetzungsrand bestehen Unterschiede zwischen den Gruppen bei Nikotinabusus, Dysplasiegrad, Multifokalität/-zentrität, p53-Expression, und angrenzendem Gewebe. Die VIN mit Rezidiv waren zu fast 90% hochgradig dysplastisch mit angrenzend ebenfalls dysplastischem Epithel und mit Multifokalität/Multizentrität, Rauchen, p53 und MIB1-Expression assoziiert (siehe auch Tabelle 6). Die HPV-Infektion unterschied sich kaum. VIN mit tumorangrenzend gemischt dysplastischem Epithel (NNVD und VIN) blieb rezidivfrei.

Tabelle 10: Korrelation der VIN mit/ ohne Rezidiv mit Alter und klinikopathologischen Charakteristika (n_{gesamt} = 18 mit Nachsorge, [#]n= 16 mit p53/ MIB1-Untersuchung, *n= 16 mit angrenzendem Gewebe)

VIN in Nachsorge	Rezidiv	
	ja (%)	nein (%)
Anzahl	9	9
mittleres Alter (Jahre)	49	45
<=45 Jahre	5 (56%)	4 (44%)
Raucher	4 (44%)	1 (11%)
Diabetiker	1 (11%)	0 (0%)
VIN3	8 (89%)	6 (67%)
multifokal u./od.-zentrisch	6 (67%)	4 (44%)
HPV-Infektion	6 (67%)	8 (89%)
Absetzungsrand positiv	6 (67%)	5 (56%)
Untersuchung auf p53/ MIB1 [#] , davon	8	8
-p53 positiv (p53>10%)	3 (38%)	1 (13%)
-hoch proliferativ (MIB 1>30%)	3 (38%)	2 (25%)
Angrenzendes Gewebe*, davon	7	9
-angrenzend nur normal u/o Atrophie	1 (14%)	3 (33%)
-angrenzend nur NNVD	1 (14%)	1 (11%)
-angrenzend nur VIN und NNVD	0 (0%)	2 (23%)
-angrenzend nur VIN	5 (72%)	3 (33%)

4.2 Vulvakarzinom

4.2.1 Häufigkeit und Altersverteilung

Im Zeitraum 1984-1995 wurden 111 primäre Plattenepithelkarzinome der Vulva in der Universitätsklinik und Poliklinik für Gynäkologie operiert. Das Durchschnittsalter der Patientinnen betrug 63,8 Jahre (27 bis 84 Jahre). Mehr als 35% der Frauen waren 70 Jahre und älter, 14,4% dagegen jünger als 50, 30,6% jünger als 60 Jahre. Die Altersverteilungen in Abbildung 5 und 6 zeigen ein Häufigkeitsmaximum zwischen dem 61.-70. Lebensjahr. Die Anzahl (54 vs. 57), das mittlere Alter und auch die Anzahl der unter 50-Jährigen blieb in den zwei Zeitkohorten von 1984-89 und 1990-95 annähernd gleich.

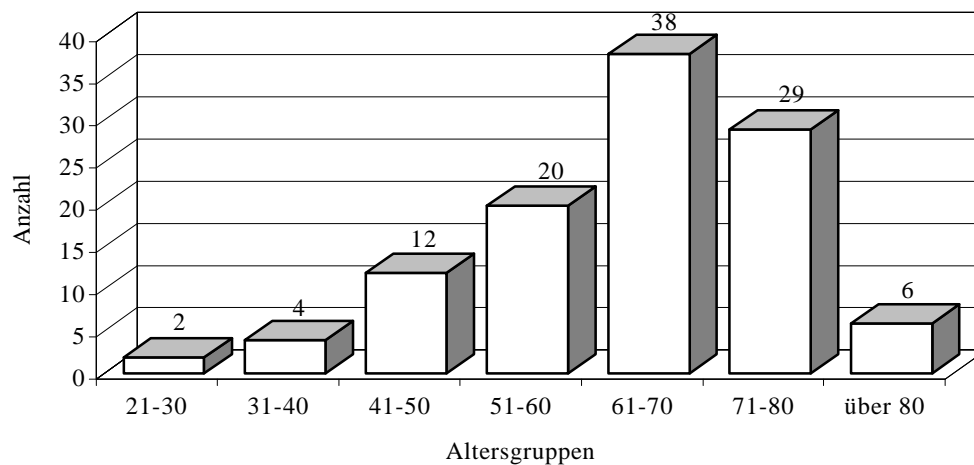


Abb. 5: Altersverteilung des Vulvakarzinoms

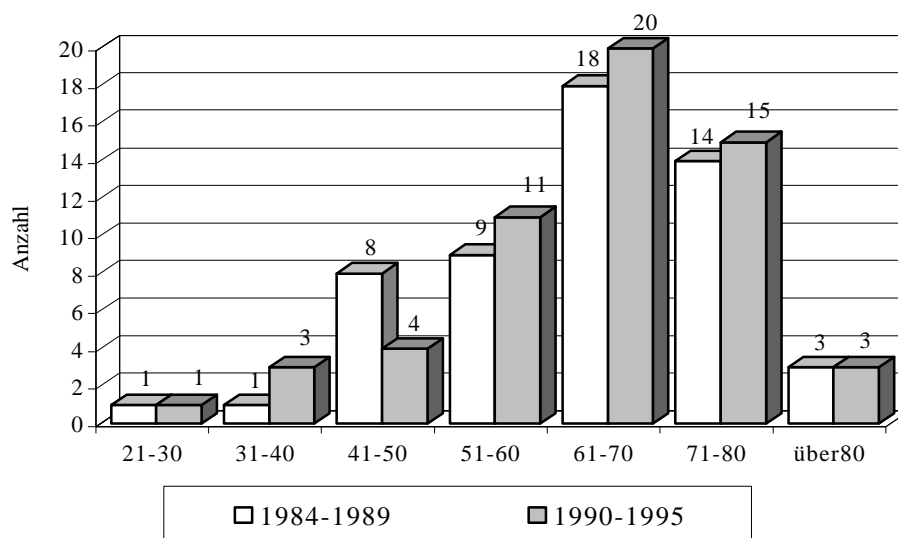


Abb. 6: Altersverteilung des Vulvakarzinoms in den Zeitkohorten 1984-89/ 1990-95

4.2.2 Klinische Daten

31,5 % der Frauen gaben (gynäkologische) Karzinome in der Familienanamnese bei Groß-/Eltern an. Die 13 Raucherinnen (11,7%) hatten mit einem mittleren Alter von 54,3 Jahren ein um 10 Jahre jüngeres Erkrankungsalter als die Nichtraucher und die Diabetiker (26%) bevorzugten das höhere Erkrankungsalter. 62 Frauen (55,9%) hatten assoziiert mindestens eine medizinische oder immunsuppressive Bedingung wie HPV-Infektion, Diabetes, Depression, Nikotin-/ Alkoholabusus, vorherige Radiatio/ Chemotherapie, Hauterkrankungen/ Allergie, Immunsuppressivaeinnahme, Leberzirrhose. Multizentrität wurde in 9 Fällen bei jüngeren mittleren Erkrankungsalter (59,7 Jahre) gefunden und mindestens 2 Jahre vor Auftreten des Karzinoms. Eine histologisch gesicherte VIN gaben 2 Frauen anamnestisch an, 2 weitere Patientinnen einen „suspekten Vulvabefund bzw. Vulvageschwür“ ohne eindeutige Angaben zur Dignität und Therapie und 4 Frauen Genitalkondylome. Am häufigsten waren mit 28% anamnestisch vulväre Langzeitirritationen wie Lichen sclerosus, Hyperplasie, chronische Entzündungen und Kraurosis. 10 der 26 NNVD in der Anamnese waren histologisch gesichert worden, nicht oder inadäquat behandelt wurden insgesamt 75%. Die durchschnittliche Partuszahl betrug 2,2 Kinder, 42 Frauen hatten mehr als 2 Kinder geboren und 13 waren Nulliparae. Das mittlere Menarchealter betrug 14,1 Jahre und die Menopause der 95 postmenopausalen Frauen 45,1 Jahre.

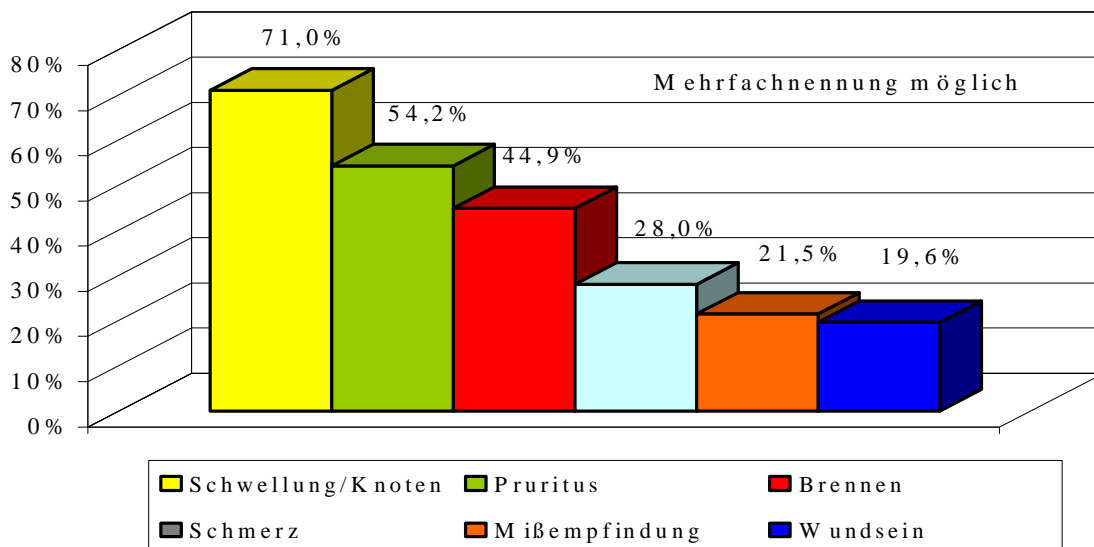


Abb. 7: Symptome der Frauen mit Vulvakarzinom (n_{gesamt} = 111)

96,4% der Patientinnen waren bei stationärer Aufnahme symptomatisch, 84,1% davon mit mehr als einem Symptom (Abb.7). Die palpable, juckende und brennende Vulvaveränderung war das meistgeklagte Symptom.

Bei insgesamt 108 Frauen ließ sich ein Grund der ärztlichen Vorstellung erheben, wobei in 69,4% (75/108) die „symptomatischen Beschwerden“, gefolgt in 27,8% vom selbst gefühlten Vulvatumor und in 3 Fällen die Routineuntersuchung zum Arzt führten. Von den 96 eruierten Zeitangaben zwischen Auftreten der subjektiven Symptome und Diagnosestellung wurde in 60,4% das Vulvakarzinom innerhalb von 6 Monaten diagnostiziert, in ¼ über 1 Jahr. Vulvaschmerzen führte durchschnittlich fast doppelt so schnell zur ärztlichen Vorstellung wie die unspezifischen Symptome Juckreiz, Brennen oder Wundsein. Eine Biopsie in der Anamnese fand sich in 46 Fällen (41,4%) und in 2 Fällen führte primär die auffällige Zytologie zur weiteren histologischen Klärung. 24 Patientinnen hatten über einen mittleren Zeitraum von mehr als 3 Jahren eine lokale (Hormon-) Salbenbehandlung der Vulva erhalten ohne weitere Diagnostik, davon in 7 Fällen eine Verzögerung über Jahre durch ärztliches Verschulden. Andererseits gaben 11% (12/111) die letzte gynäkologische Untersuchung vor 2 und mehr Jahren an (2-32 Jahre, mittlere Zeit 9,6 Jahre).

64,9 % (72/111) der Vulvakarzinome waren auf die Labien begrenzt, bevorzugten die kleinen Labien überwiegend rechtsseitig. Insgesamt 20% der Frauen präsentierten Hautveränderungen an der Klitoris, nur wenige an den Kommissuren, am Introitus oder im Perineal- und Analbereich. 10% der Vulvakarzinome traten multifokal auf, insbesondere dann bei jüngeren Frauen (Durchschnittsalter 57,6 Jahre) im Vergleich zu den unifokalen mit Bevorzugung eines um 7 Jahre höheren mittleren Alters.

In 109 Fällen war zum Zeitpunkt der Karzinomdiagnose die Vulva makroskopisch auffällig, entweder durch Verfärbungen der Haut und/ oder Hautniveauunterschiede. Die Hälfte der Karzinompatientinnen wiesen bei der gynäkologischen Inspektion suspekta Hautverfärbungen an der Vulva auf, davon in 80% der Fälle (44/55) als leukoplakes Aussehen, ¼ davon zusätzlich mit Hornschollen bzw. Zeichen einer Hyperkeratose. Die Lichenifikation der Vulva war häufig koexistent und trat in nur 3 Fällen isoliert auf. Die Mehrzahl (80/111) der Karzinome imponierte palpatorisch durch eine umschriebene, derb-knotige Vulvaverdickung und in 15% zusätzlich durch warzige Hautveränderungen. Gefäßatypien waren in 6 Fällen hinweisend, während Labialulzera/-erosionen in 53 Fällen (47,7%) recht häufig in Verbindung mit einem zugrundeliegenden Karzinom beobachtet wurden.

In 8 Fällen überraschte die histologische Karzinomsicherung den klinisch als benigne (überwiegend als "Kraurosis oder Leukoplakie") eingestuften Vulvabefund.

6 der 10 präoperativ dokumentierten Vulvazytologien hatten einen auffälligem Pap III-V. Die Vulvoskopie mit Toluidinblau- und Essigprobe wurde eingesetzt zur Erkennung und gezielten Lokalisation der Zytologie und Biopsie insbesondere bei unklaren Arealen. Die Karzinome wurden bioptisch gesichert. In $\frac{3}{4}$ der Fälle korrelierte der palpatorisch erhobene mit dem histologischen Lymphknotenbefund der Inguinalregion (Tabelle 11).

Tabelle 11: Korrelation von klinischem mit histopathologischem Lymphknotenstatus beim Vulvakarzinom (n_{gesamt} = 78 Frauen mit Lymphonodektomie)

Lymphknotenbefund	Anzahl	%
Übereinstimmung von Klinik und Histologie	58	74
klinisch falsch positiv	13	17
klinisch falsch negativ	7	9
Summe	78	100

4.2.3 Operative Therapie

Die radikale Vulvektomie mit beidseitiger Lymphonodektomie war die häufigste Operation beim Vulvakarzinom. Die lokale Teilexzision und eingeschränkte Vulvektomie mit/ohne Lymphonodektomie erfolgte kurativ bei einer T1/2-Situation oder aus palliativer Intention wegen Multimorbidität der Patientin. In 19 Fällen wurde der Hautdefekt mittels myokutaner Verschiebelappenplastik gedeckt. 92,3% der 78 Frauen mit inguinaler Lymphonodektomie erhielten diese beidseitig, 30% der Operierten wurden keiner LK-Entfernung unterzogen.

Tabelle 12: Operationen des Vulvakarzinoms (n_{gesamt} = 111 Patientinnen)

Operation	Anzahl	%
lokale Tumorteilexzision (einschließlich PE)	15	13,5
lokale Tumorexzision (wide excision)	5	4,5
eingeschränkte Vulvektomie	9	8,1
radikale Vulvektomie	78	70,3
Exenteration und radikale Vulvektomie	4	3,6
Summe	111	100

Insgesamt erhielten 52 Frauen eine Radiatio, in 35 Fällen adjuvant nach radikaler Operation, ab zwei befallenen LK, bei Kapseldurchbruch, Kategorie T3-4 oder bei Verzicht auf die Lymphadenektomie wegen eingeschränkter Operabilität. 17 Patientinnen wurden wegen eingeschränkter Operabilität (2 davon palliativ bei diagnostizierten Fernmetastasen) nach

Tumorteilexzision oder Biopsie primär bestrahlt, wobei immer Vulva- und Leistenfelder behandelt wurden. Bei Befall der inguinofemorale Lymphknoten wurde auf eine pelvine LK-entfernung verzichtet und postoperativ perkutan die Inguinal- und Iliakalregion nachbestrahlt. 8 von 52 Frauen erhielten zusätzlich eine Chemotherapie, davon 7 mal intratumorale Bleomycingabe bei ausgedehntem Lokalbefund und eine systemische Polychemotherapie mit vorzeitigem Abbruch auf Wunsch der Patientin. Nicht selten konnte die adjuvante Therapie nicht erfolgen oder mußte vorzeitig beendet werden wegen schlechtem Allgemeinzustand.

4.2.4 Stadien und Histologische Daten

64% (71/111) der Karzinomträgerinnen waren im prognostisch günstigen FIGO-Stadium I und II. Bei einem Kasus im FIGO I mißlang die Invasionstiefenbestimmung und damit die weitere Zuordnung. 5,4% erfüllten die Kriterien eines mikroinvasiven Karzinoms, die in 83,3% der Fälle eine radikale Vulvektomie mit Lymphonodektomie beidseits erhalten hatten. 33,3% der entfernten inguinalen LK wiesen Metastasen auf und in 3 Fällen bestand bei Diagnosestellung bereits eine M1-Situation. In 10 operierten Fällen mit kurativer Zielsetzung war die Absetzung einseitig nicht im Gesunden mit 7 mal VIN und 3 mal Karzinomgewebe.

Tabelle 13: FIGO und TNM- Klassifikation des Vulvakarzinoms (n_{gesamt} = 111 Frauen)

FIGO	Anzahl	T	Anzahl	N	Anzahl	M	Anzahl
FIGO I	26	T 1	26	N 0	52	M 0	106
FIGO Ia	6	T 1a	6	N 1	19	M 1	3
FIGO Ib	19	T 1b	19	N 2	7	M x	2
FIGO II	45	T 2	68	N x	33	Summe	111
FIGO III	27	T 3	14	Summe	111		
FIGO IV	13	T 4	3				
Summe	111	Summe	111				

Die histologischen Kriterien der 111 Plattenepithelkarzinome mit Bezug zum inguinalen LK-Status umfasst Tabelle 14. Karzinome bis 20 mm Größe bzw. unter 1,5 mm Invasionstiefe waren ohne Inguinalbefall. Ab 22 mm Tumordurchmesser bzw. 2,5 mm Invasionstiefe wurde eine bilaterale inguinale Metastasierung gefunden. In keinem Fall zeigte sich eine alleinige kontralaterale Metastasierung bei unilateralem Tumorsitz. 88% Karzinome waren gut bis mäßig differenziert mit Verdopplung der inguinalen Metastasierung bei G3/4. Karzinome mit disseminiertem oder gemischtem Wachstumsmuster an der Invasionsfront und unifokalem

Wachstum hatten %ual häufiger inguinale Metastasen als die kompakt infiltrierenden und multifokal auftretenden. Desmoplasie und exophytisches Wachstum waren ohne Einfluß auf den LK-Befall. Ein geringes peritumorales Rundzellinfiltrat ging in fast 90% mit Metastasen einher, eine stärkere „lokale Wirtsabwehrreaktion“ deutlich seltener. Karzinome mit Einbruch ins Lymph-Gefäßsystem, Tumornekrosen/-ulzerationen, geringer Verhornung, Tumordicke ab 5 mm und erhöhter Mitose hatten etwa doppelt so häufig LK-Metastasen im Vergleich.

Tabelle 14: Verteilung der histopathologischen Parameter beim Vulvakarzinom und deren Korrelation mit dem LK-Befall (*n_{gesamt} = 78 Frauen mit Lymphonodektomie)

histopathologische Parameter		Anzahl	%	N positiv*
Tumordiameter in mm (n=111)	<21	26	23	0/18 (0%)
	>=21	85	77	26/60 (43%)
Grading (n=110)	G1/G2	97	88	21/70 (30%)
	G3/G4	13	12	5/8 (63%)
Invasionstiefe in mm (n=95)	>0 -1	14	15	0/11 (0%)
	>1 -3	36	38	7/29 (24%)
	>3	45	47	19/37 (51%)
Wachstumsmuster (n=102)	disseminiert	25	25	8/21 (38%)
	kompakt	36	35	7/25 (28%)
	gemischt	41	40	11/30 (37%)
Fokus (n=111)	unifokal	100	90	25/71 (35%)
	multifokal	11	10	1/7 (14%)
Desmoplasie (n=99)	gering	40	40	9/30 (30%)
	mäßig-stark	59	60	17/45 (38%)
Rundzellinfiltrat (n=106)	gering	17	16	8/9 (89%)
	mäßig-stark	89	84	18/69 (26%)
Lymph-Gefäßeinbruch (n=101)	suspekt/ ja	45	45	15/33 (45%)
	nein	56	55	11/44 (25%)
Tumordicke in mm (n=95)	>0-5	35	37	6/27 (22%)
	>5	60	63	20/50 (40%)
exophytischer Anteil (n=96)	ja	46	48	12/36 (33%)
	nein	50	52	14/41 (34%)
Tumorulzeration (n=104)	ja	40	38	14/29 (48%)
	nein	64	62	12/49 (24%)
Nekrose (n=103)	ja	34	33	12/22 (55%)
	nein	69	67	14/55 (25%)
Verhornung (n=110)	nicht-gering	53	48	16/37 (43%)
	mäßig-stark	57	52	10/41 (24%)
Mitoserate (n=103)	gering	44	43	6/34 (18%)
	mäßig-hoch	59	57	20/43 (47%)

Tabelle 15: Verteilung klinischer und histopathologischer Parameter in den verschiedenen Vulvakarzinomsubtypen (*n_{gesamt} = 101 Frauen mit Karzinomsubtyp, p mit Chi-Quadrat-Test nach Pearson, außer * T-Test und " Exakter Test nach Fisher)

Parameter	Gesamt- anzahl n= 101	Vulvakarzinom		p
		basaloid und warty n= 63	verrukös n= 38	
mittleres Alter (Jahre)	64	60	68	,004*
Alter <55 Jahre	22	18 (29%)	4 (11%)	,03
55 Jahre und älter	79	45 (71%)	34 (89%)	
multifokal	9	9 (14%)	0 (0%)	,013"
unifokal	92	54 (86%)	38 (100%)	
Rauchen: ja	11	11 (18%)	0 (0%)	,006"
nein	85	49 (82%)	36(100%)	
unbekannt	5			
Diabetes: ja	27	16 (25%)	11 (29%)	ns
nein	74	47 (75%)	27 (71%)	
T1/2	88	56 (89%)	32 (84%)	ns"
T3/4	13	7 (11%)	6 (16%)	
N0	50	33 (67%)	17 (63%)	ns
N1/2	26	16 (33%)	10 (37%)	
Nx (unbekannter Status)	25			
Differenzierungsgrad G1	39	20 (32%)	19 (50%)	ns
G2-G4	62	43 (68%)	19 (50%)	
Wachstumsmuster kompakt	33	22 (37%)	11 (30%)	ns
disseminiert	25	16 (27%)	9 (24%)	
gemischt	39	22 (37%)	17 (46%)	
unbekannt	4			
Desmoplasie gering	39	23 (38%)	16 (42%)	ns
mäßig-stark	59	37 (62%)	22 (58%)	
unbekannt	3			
Lymph-Gefäß-Einbruch: ja	43	28 (47%)	15 (40%)	ns
nein	54	32 (53%)	22 (60%)	
unbekannt	4			
HPV positiv	23	21 (33%)	2 (5%)	,001
negativ	78	42 (67%)	36 (95%)	
p53 positiv	27	16 (52%)	11 (73%)	ns
negativ	19	15 (48%)	4 (27%)	
unbekannt	55			
MIB1: 0-30%	31	19 (61%)	12 (80%)	ns"
MIB1: >30%	15	12 (39%)	3 (20%)	
unbekannt	55			

angrenzend nur NNVD	33	17 (50%)	16 (70%)	ns
angrenzend nur VIN	24	17 (50%)	7 (30%)	
angrenzend andere	37			
Rezidiv: ja	31	22 (39%)	9 (27%)	ns
nein	59	35 (61%)	24 (73%)	
unbekannt (ohne Nachsorge)	11			
mittlere rezidivfreie Zeit (Monate)	31,1	32,1	28,5	-

Beim Vergleich der histologischen Tumorsubtypen in Tabelle 15 zeigten sich einige deutliche Unterschiede. Patientinnen mit dem „warty“ und "basaloiden"-Typ waren im Vergleich zum klassischen verhornenden Karzinomtyp signifikant jünger und mit den Risikofaktoren Rauchen und HPV assoziiert. Fast 30% der Frauen mit diagnostiziertem basaloid-warty Karzinom waren jünger als 55, verglichen mit 11% beim verhornenden Karzinom. Das „basaloid-warty" Karzinom korrelierte signifikant mit multifokalem Wachstum und zeigte tendenziell ein schlechteres Grading ($p=0,07$) und angrenzend häufiger eine VIN ($p=0,14$). Das veruköse Plattenepithelkarzinom der älteren Frau trat in keinem Fall multifokal auf, zeigte tendenziell häufiger eine p53-Überexpression ($p=0,16$) sowie angrenzend NNVD. Die anderen Parameter waren ohne relevante Unterschiede.

96 Plattenepithelkarzinome wiesen in ihrer unmittelbaren Umgebung beurteilbares Gewebe auf. In Tabelle 16 lässt sich erkennen, dass VIN sowie Hyperplasie bevorzugt karzinomnah auftreten und das normale/ atrophische Epithel und der LS eher herdf fern.

Tabelle 16: absolute Anzahl des angrenzenden Epithels der Vulvakarzinome ($n_{\text{gesamt}}=96$)

angrenzendes Epithel	herdnah	%	herdfern	%
normales Plattenepithel	26	18	61	48
Atrophie	5	4	22	17
Hyperplasie	47	34	11	9
LS	5	4	24	20
VIN1-3	56	40	8	6
Summe	139	100	126	100

Rund 6% der Karzinome hatten ausschließlich unauffälliges Plattenepithel angrenzend, während die restlichen 94% von nichtneoplastischen und/oder dysplastischen Veränderungen umgeben waren (Tabelle 17). Am häufigsten waren NNVD allein oder in Kombination mit einer VIN. Rund $\frac{1}{4}$ der Karzinome waren ausschließlich von dysplastischem Epithel umgeben. Die Karzinome mit angrenzend gemischt "nur NNVD und VIN" waren eher jünger

und zeigten im Vergleich zu den anderen prozentual deutlich seltener Metastasen und Rezidive. Die Vulvakarzinome mit angrenzender VIN hatten mit 47% die höchste lymphonodale Metastasierung und in knapp 40% Rezidive, gefolgt von den NNVD. Beim Vergleich beider Zeitkohorten fand sich eine sehr geringe Zunahme der Karzinome mit angrenzender VIN (49% vs. 56%) ohne erkennbaren Bezug zum Alter.

Tabelle 17: Angrenzendes Epithel der Vulvakarzinome in Korrelation mit mittlerem Alter, LK-Befall und Rezidiv ($n_{\text{gesamt}} = 96$ Patientinnen mit angrenzendem Epithel, davon *n= 77 Frauen mit Lymphonodektomie und 'n= 86 mit Nachsorge)

angrenzendes Epithel	Anzahl	%	mittlere Alter (Jahre)	LK-Befall *	Rezidiv `
nur normal u/o Atrophie	6	6	58	33% (2/6)	17% (1/6)
nur NNVD	34	35	65	36% (10/28)	46% (13/28)
- LS	5		69		
- Hyperplasie	20		63		
- LS+Hyperplasie	9		66		
nur NNVD und VIN	31	33	61	17% (4/24)	17% (5/29)
- LS+VIN	8		64		
- Hyperplasie+VIN	19		60		
- LS+Hyperplasie+VIN	4		59		
nur VIN	25	26	65	47% (9/19)	39% (9/23)
Summe	96	100			

4.2.5 HPV-Status

22,5% der Plattenepithelkarzinome hatten histologisch oder in der IsH Merkmale einer Virusinfektion, davon waren knapp 25% der Frauen über 70 Jahre. 3 der 8 typisierten Karzinome wiesen HPV auf, zwei davon die HR HPV 16/18.

Beim Vergleich klinisch-morphologischer Parameter der virusinfizierten Karzinome mit der nicht infizierten Gruppe fiel auf, dass die HPV-Infektion prozentual häufiger jüngere rauchende Frauen bei ähnlichem mittleren Alter betraf und im Verlauf häufig Rezidive bei seltener Metastasierung aufwies (Tabelle 18). Die viruspositiven Karzinome waren bevorzugt vom warty-basaloiden Typ (91%) und in günstigem FIGO-Stadium, in fast der Hälfte von VIN begrenzt mit gehäuft positivem Absetzungsrand im Kontrast zu den virusnegativen Karzinomen. Parameter wie Differenzierungsgrad, Lymph-Gefäßeinbruch, Invasionstiefe,

Desmoplasie, Rundzellinfiltrat, Tumordicke und Verhornungsgrad zeigten keine Unterschiede in den Virusgruppen.

Tabelle 18: Korrelation der klinikopathologischen Parameter der Vulvakarzinome mit dem HPV-Status in zwei Gruppen (n_{gesamt} = 111 Frauen, davon n = 87 in Nachsorge, #n = 102 mit bekanntem Wachstumsmuster, °n = 96 mit angrenzendem Gewebe, *n = 78 mit Lymphonodektomie)

klinische/ histologische Parameter	HPV positiv	%	HPV negativ	%
Anzahl	25		86	
mittleres Alter (Jahre)	62		64	
<=65 Jahre	16	64	37	43
anamnestisch NNVD/ Vulvitis	6	24	11	13
anamnestisch VIN/ CIN/ CIS/ Zervixkarzinom	0	0	7	9
anamnestisch Condylome	2	8	2	2
Raucher	6	24	7	8
mittleres Alter der Raucher (Jahre)	49		59	
FIGO I	10	40	16	19
multifokal und/oder multizentrisch	5	20	14	16
Wachstumsmuster: # - kompakt	11/22	50	25/80	31
-disseminiert	3/22	14	22/80	28
angrenzend: ° - nur normal u./od. Atrophie	0	0	6/72	8
- nur NNVD	8/24	33	26/72	36
- nur NNVD und VIN	5/24	21	26/72	36
- nur VIN	11/24	46	14/72	19
Absetzungsrand positiv (kuratives OP-Ziel)	5	20	5	6
LK- Befall *	4/19	21	22/59	37
Rezidiv `	15/22	68	17/65	26

4.2.6 p53- Onkoprotein und Antikörper MIB1

Die Immunhistochemie zeigte in 57,5% der 47 untersuchten Plattenepithelkarzinome eine p53-Überexpression, d.h. in über 10% der Zellkerne ein positives Signal. 63% davon zeigten eine mäßige bis starke Expression. Beim Vergleich der Karzinome mit und ohne Überexpression finden sich keine Unterschiede im mittleren Alter, in der Rezidivrate und in der Verteilung des angrenzenden Epithels, wobei insgesamt angrenzend zum p53 positiven Karzinom die Expression deutlich höher war als zum negativen Karzinomen (Tabelle 19). Normales Plattenepithel, Atrophie und LS exprimierte in keinem Fall angrenzend zum p53-

negativen Karzinom. Insgesamt zeigte sich angrenzend an die immunhistochemisch untersuchten Vulvakarzinome eine p53-Überexpression in 16% (6/37) des normalen/atropnen Plattenepithels, in 26% (7/25) der NNVD sowie in 48% (12/25) der VIN. Die p53 positiven Karzinome hatten signifikant häufiger eine primäre lymphonodale Metastasierung als die p53 negative Gruppe ($p=0,011$ mit Exaktem Test nach Fisher). Fernmetastasen in der Nachsorge hatten ausschließlich die p53-positiven Karzinome mit auch angrenzender p53-Positivität. Die gesamte p53-negative Karzinomgruppe sowie die p53-positiven Karzinome ohne angrenzende Überexpression hatten ausschließlich Lokalrezidive, in einem Fall trat später zusätzlich eine inguinale Metastasierung auf.

Tabelle 19: Korrelation der klinikopathologischen Charakteristika mit p53-Status der Vulvakarzinome in zwei Gruppen ($n_{\text{gesamt}} = 47$ Frauen, davon $\circ n = 42$ mit angrenzendem Gewebe, $*n = 36$ mit Lymphonodektomie und $'n = 44$ in Nachsorge)

	p53 negativ	p53 positiv
Anzahl	20	27
mittlere Alter (Jahre)	61	63
\circ angrenzend nur -normal u/o Atrophie	2/17 (12%)	1/25 (4%)
-NNVD	6/17 (35%)	8/25 (32%)
-NNVD und VIN	5/17 (30%)	8/25 (32%)
-VIN	4/17 (24%)	8/25 (32%)
\circ angrenzend p53 positiv	4/17 (24%)	15/25 (60%)
Lymphknoten positiv *	1/14 (7%)	11/22 (50%)
Rezidiv `	10/18 (56%)	11/26 (42%)
-Patientenanzahl mit Lokalrezidiv	10	8
-Patientenanzahl mit Fernmetastasen	0	7

Tabelle 20: Korrelation der klinikopathologischen Charakteristika mit MIB1-Status der Vulvakarzinome in zwei Gruppen ($n_{\text{gesamt}} = 47$ Frauen, davon $'n = 44$ in Nachsorge)

	MIB1: 0-30%	MIB1:>30%
Anzahl	32	15
mittlere Alter (Jahre)	63	59
p53 positiv	19 (59%)	8 (53%)
p53 negativ	13 (41%)	7 (47%)
Rezidiv `	14/30 (47%)	7/14 (50%)

68,1% der Vulvakarzinome exprimierten den Proliferationsmarker MIB1 in maximal 30% der Tumorzellen, das heißt mit eher niedriger bis mittelgradiger Wachstumsfraktion. Die höher

proliferierenden Karzinome traten im Mittel eher in etwas jüngerem Alter von 59 Jahren auf, ansonsten zeigte MIB1 keine Korrelation zum p53 und war ohne Einfluß auf das Rezidivverhalten. 23,4% (11/47) der Karzinome hatten weder eine p53-Überexpression noch eine Virusinfektion und zeigten in der Nachsorge mit 22,2% (2/9) am seltensten Rezidive. Eine Koexpression fand sich bei 7 Karzinomen und ging mit einem Anstieg der Rezidivrate auf 71% einher. 65% (20/31) der virusnegativen Karzinome und 44% (7/16) der viruspositiven Karzinome waren p53- überexpressiv. Betrachtet man nur die 17 Karzinome mit deutlicher p53 Überexpression (>30%), ist der prozentuale Unterschied mit 45% (14/31) versus 19% (3/16) deutlicher was bedeutet, dass die p53 positiven Karzinome eher HPV negativ sind. In den unifokal und disseminiert wachsenden, bereits metastasierten Karzinomen und über 2 mm Invasionstiefe war der Anteil der p53-Überexpression doppelt so hoch wie in den prognostisch günstiger eingestuften Karzinomen ohne Metastasen mit geringer Invasionstiefe, kompakter Wachstumsfront und multifokalem Auftreten. 11 der 12 primär inguinal metastasierten Karzinome waren p53 positiv, bei beidseitigem inguinalem LK-Befall/ Fernmetastasierung in 100% mit starker Expression in über 30% der Tumorzellen. Bei primärem N0- Status waren 46% (11/24) der Vulvakarzinome p53-positiv in hauptsächlich 11-30% der Tumorzellen.

Betrachtet man die p53 Positivität des unterschiedlichen angrenzenden Gewebes, zeigte das gemischte Epithel "nur NNVD und VIN" ähnlich dem normalen/atrophen Epithel bei hoher Proliferationsrate eine prozentual halb so hohe p53-Überexpression als angrenzende VIN mit 67% (Tabelle 21).

Tabelle 21: Expression von p53 und MIB1 im angrenzenden Gewebe der immunhistochemisch untersuchten Vulvakarzinome (n_{gesamt} = 42 Karzinome mit angrenzendem Gewebe)

angrenzendes Epithel	n	davon p53 positiv (%)	davon MIB1 >10% (%)	davon MIB1 >30% (%)
nur normal u/o Atrophie	3	1 (33)	2 (67)	2 (67)
nur NNVD	14	6 (43)	9 (64)	2 (14)
nur NNVD und VIN	13	4 (31)	10 (77)	4 (31)
nur VIN	12	8 (67)	5 (42)	2 (17)
Summe	42	19 (45)	26 (62)	10 (24)

4.2.7 Nachsorge

95 der 111 Karzinompatientinnen (85,6%) konnten postoperativ 1 Monat bis maximal 14 ½ Jahre nachbetreut werden (im Mittel 47,6 Monate). 63 Frauen (66,3%) waren nach der Primärtherapie rezidivfrei. 32 Frauen mit einem mittleren Alter von 61 Jahren erlitten mindestens ein Rezidiv (durchschnittlich 2) im Verlauf, davon waren 78% älter als 55 Jahre. In 10 Fällen davon traten die Rezidive nach einer primär eingeschränkten Radikaloperation auf. Fast 70% der Rezidive wurden in den ersten 2 Jahren nach der Operation diagnostiziert, während mit 12% die späten Rezidive (>7 Jahre) eher selten waren. In der Rezidivgruppe war prozentual der positive Absetzungsrand (34% vs. 11%) gegenüber den rezidivfreien Vulvakarzinomen erhöht. Die Frauen mit Rezidiv unterschieden sich mit einem mittleren Alter von 61 Jahren kaum von der Gruppe ohne Rezidiv mit 63 Jahren.

81% (26/32) der Rezidive waren Lokalrezidive, davon 6 zusätzlich inguinal mit/ohne Fernmetastasen. Als Erstrezidiv wurde in der Mehrzahl der Fälle (84,4%) der loko-regionäre Befall beobachtet, während in den restlichen 5 Fällen (15,6%) bereits eine Fernmetastasierung nach primär radikal operiertem und bestrahltem Vulvakarzinom FIGO III/IV auftrat. Insgesamt kam es im Nachsorgezeitraum in 9 Fällen (28,1%) zur Fernmetastasierung in Lunge, Haut, Mediastinum, Leber oder Gehirn. Die Rezidivgruppe mit radikaler Primäroperation war im Mittel 7 Jahre jünger als die rezidivfreien Frauen (56 Jahre versus 63 Jahre). Als Komplikationen des Tumors und seiner Therapie traten tiefe Becken-Beinvenenthrombosen, Erysipel, Strahlendermatitis, Beinlymphödeme, Sekundärheilungen und narbige Introitusstenosen auf. In 14 Fällen kam es infolge des Tumorleidens zum Tode.

4.3 VIN und Vulvakarzinom im Vergleich

4.3.1 Häufigkeit, Altersverteilung und Trend

Der signifikante Altersunterschied zwischen der VIN und dem Vulvakarzinom spricht für eine ca. 16-jährige Entwicklungszeit eines invasiven Karzinoms aus der vulvären Dysplasie.

Tabelle 22: Gegenüberstellung des mittleren Alters von VIN und Vulvakarzinom in beiden Zeitkohorten und im gesamten Beobachtungszeitraum (*Mann-Whitney-U-Test)

Zeitraum (in Jahren)	Anzahl	mittleres Alter (in Jahren)		Signifikanz p*
		VIN	Plattenepithelkarzinom	
1984-1989	64	44	64	
1990-1995	60	52	64	
1984-1995	134	48	64	0,002

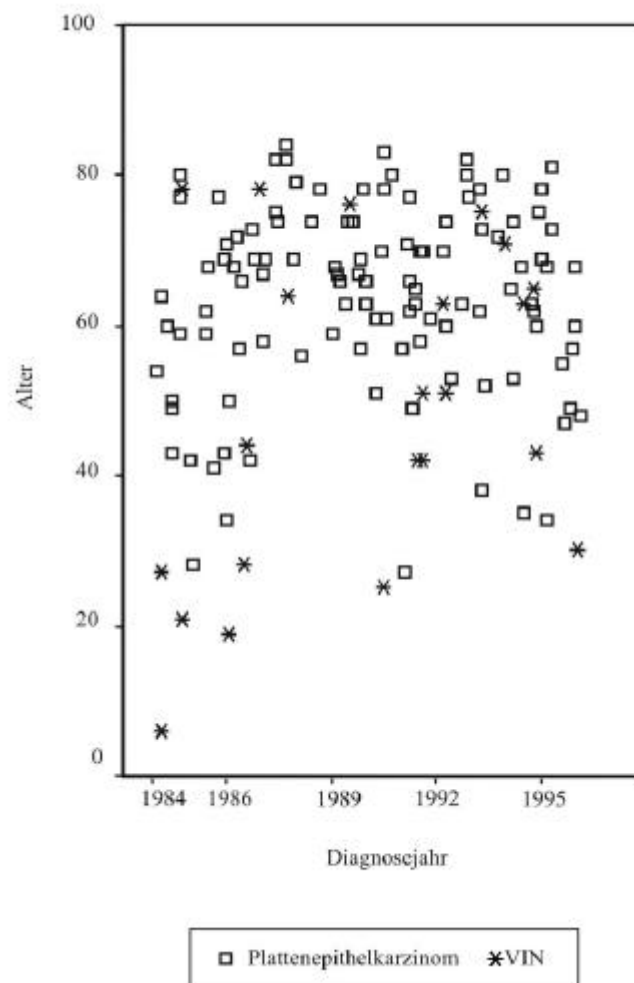


Abb. 8: Alter der Frauen mit VIN und Vulvakarzinom im Zeitverlauf 1984-1995

Das Streudiagramm zeigt das Erkrankungsalter im Beobachtungszeitraum 1984-95. Im eigenen Krankengut ließ sich mittels Linearregression kein Zusammenhang nachweisen, dass die Frauen mit VIN oder Vulvakarzinom bei Diagnosestellung im Zeitverlauf jünger wurden. Die Abbildung 9 vergleicht die Altersverteilung in 20-Jahresschritten, wonach sich im Vergleich zum Karzinom mit Erkrankungsmaximum der 50 bis 70 Jährigen bei der VIN ein zusätzliches Erkrankungsmaximum der jungen Frau bis zum 30. Lebensjahr findet.

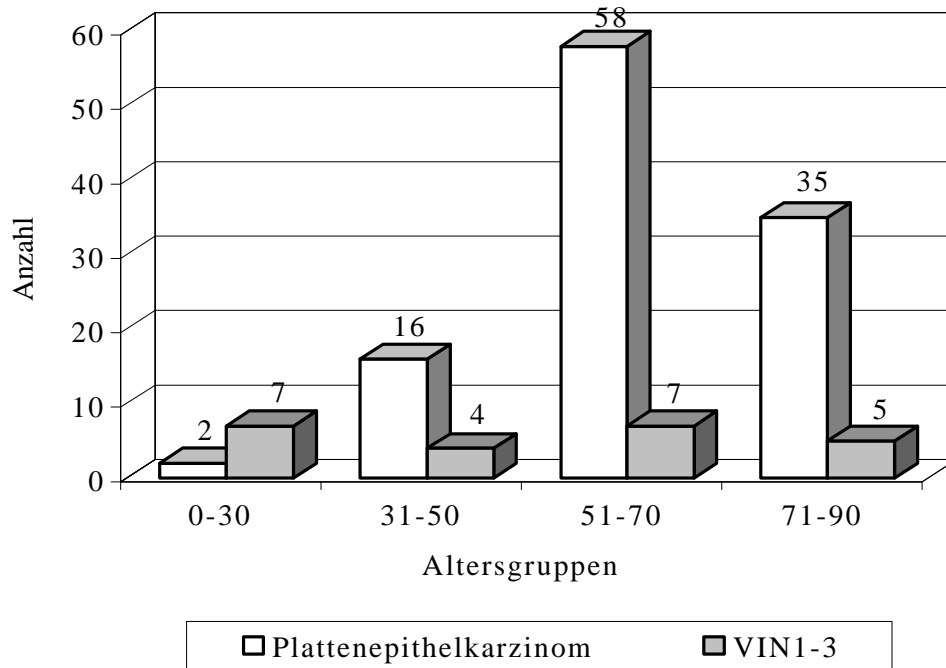


Abb. 9 Altersverteilung der Frauen mit VIN und Vulvakarzinom im Vergleich

4.3.2 Daten aus Klinik, Histologie, Immunhistochemie und Virologie im Vergleich

Unter Berücksichtigung des Nikotins als Risikofaktor war erkennbar, dass Raucher 10-23 Jahre jünger an Vulva(prä-)neoplasien erkrankten als die Nichtraucher. Raucherinnen mit zusätzlicher HPV-Infektion des äußeren Genitale waren um weitere 3-4 Jahre jünger bei Diagnosestellung. Der Anteil der Raucher und multizentrisches Auftreten waren bei den VIN gegenüber den Karzinomen erhöht, dagegen waren signifikant mehr Diabetiker in der Karzinomgruppe. Lokalisation und Symptomatik unterschied sich kaum, lediglich die Frauen mit VIN waren signifikant häufiger asymptomatisch ($p=0,029$; Exakter Test nach Fisher) und gaben bei Symptomatik signifikant seltener Brennen als ihre Karzinompatientinnen an ($p=0,021$; Chi-Quadrat nach Pearson). Ein signifikanter Unterschied zum Karzinom fand sich in der hohen Multifokalität der VIN, ihrer HPV-Infektionsrate und der Absetzung nicht im

Gesunden. Bei ähnlicher Proliferationsverteilung (MIB1- Expression) war die Überexpression von p53 im Karzinom höher als in der VIN, was mit einem p von 0,057 knapp die statistische Signifikanz verfehlte und somit als Tendenz gewertet werden muß. Die VIN rezidierten häufiger aber später als die Karzinome. Das peritumorale Gewebe von VIN und Karzinom zeigte signifikante Unterschiede, wobei die VIN in $\frac{3}{4}$ der Fälle von normalem und am häufigsten dysplastischem Epithel und das Karzinom bevorzugt von nichtdysplastischem umgeben war. VIN und Karzinom hatten bei angrenzend gemischtem Epithel aus NNVD und VIN keine bis selten Rezidive im Vergleich. Für die Rezidivwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom angrenzenden Gewebe zeigte sich eine Tendenz (p= 0,082), Für eine statistische Aussage sind größere Datenmengen und weitere Untersuchungen erforderlich.

Tabelle 23: Gegenüberstellung klinischer und histologischer Parameter der VIN und Vulvakarzinome (Zeilenprozente, # n_{gesamt} = 108 Frauen in Nachsorge, p= Chi-Quadrat-Test nach Pearson, * Exakter Test nach Fisher)

Parameter	VIN		Karzinom		p
	gesamt	davon n (%)	gesamt	davon n (%)	
mittl. Alter der Raucher (Jahre)	30		54		
mittl. Alter der Nichtraucher (Jahre)	53		65		
mittl. Alter der Raucher (Jahre) mit HPV	28		49		
Raucher	23	5 (22)	106	13 (12)	ns*
Diabetiker	23	1 (4)	111	29 (26)	0,023
multizentrisch	23	4 (17)	111	9 (8)	ns*
multifokal	23	10 (44)	111	11 (10)	<0,001*
Absetzungsrand positiv	23	12 (52)	110	25 (23)	0,004
HPV- Infektion	23	17 (74)	111	25 (23)	<0,001
p53-Positivität	19	6 (32)	47	27 (57)	ns
MIB-1 (0-30% Zellen)	19	12 (63)	47	32 (68)	ns
angrenzendes Gewebe	20		96		
nur normal u./od. Atrophie		6 (30)		6 (6)	
nur NNVD		3 (15)		34 (35)	
nur NNVD und VIN		2 (10)		31 (32)	
nur VIN		9 (45)		25 (26)	0,001
Rezidiv ja	18	9 (50)	95	32 (34)	ns
Rezidiv ja und angrenzendes Gewebe	7		28		
nur normal u./od. Atrophie		1 (14)		1(4)	
nur NNVD		1 (14)		13 (46)	
nur NNVD und VIN		0		5 (18)	
nur VIN		5 (71)		9 (32)	ns
Rezidivfreie Zeit (in Monaten)#	50,7		36,7		

5 Diskussion

5.1 Alter, Altersverteilung und Trend

Die hier untersuchten Fallzahlen einer Universitätsfrauenklinik widerspiegeln das Vulvakarzinom und die Präkanzerose VIN als seltene Erkrankungen. In der vorliegenden Arbeit betrug das durchschnittliche Erkrankungsalter der Frauen mit VIN 48 und mit Vulvakarzinom 64 Jahre, was mit der Literatur korreliert [123, 181, 193, 195]. Ähnlich den Angaben anderer Autoren zeigte das Vulvakarzinom eine eingipflige [63, 102, 152, 158, 182] und die VIN eine dreigipflige Altersverteilung [32, 72]. Auch eine Zweigipfligkeit der VIN wird beschrieben [80]. Das knapp $\frac{1}{3}$ der Frauen bei Diagnose 30 Jahre und jünger waren entspricht den Auswirkungen der epidemiologisch beobachteten Inzidenzzunahme im jüngeren Alter. Der Vergleich der Manifestationsalter von VIN und Vulvakarzinom lässt einen biphasischen Verlauf der Karzinogenese mit einer Progressionszeit von ca.16 Jahren von der Dysplasie zum invasiven Karzinom erkennen [63, 80]. Der in Studien beobachtete Trend einer zunehmenden Vorverlagerung ins jüngere Erkrankungsalter bei VIN und Karzinom war in den eigenen Daten nicht erkennbar [79-81]. Aufgrund insgesamt niedriger Fallzahlen und eingegrenzter Patientinnenauswahl einer Klinik ist eine klare Aussage hierzu nicht möglich. Die Inzidenzzunahme der Präkanzerosen ist laut Literatur nicht von einer Zunahme der Karzinominzidenz begleitet [76, 109, 123]. Die beiden Kohorten 1984-89 und 1990-95 ließen eine geringe Fallzunahme zugunsten der hochgradigen Dysplasie erkennen, während Anzahl und mittleres Alter der Frauen mit operierten Vulvakarzinom annähernd gleich blieb. Die fehlende Zunahme der jüngeren Frauen mit VIN-assoziiertem Karzinom im eigenen Untersuchungsgut steht vergleichbar zweier Veröffentlichungen [68, 173] im Widerspruch zu andere Studien mit nachweisbarer Zunahme [2, 79, 81].

5.2 Klinik

5.2.1 Risikofaktoren

Immunsuppression, Nikotinabusus, chronische Vulvairritationen und multizentrische Genitaldysplasien stellen neben dem viralen Faktor entscheidende Risikofaktoren in der Vulvakarzinogenese dar. Multizentrität wird in 13% der Vulvakarzinome [124], in den

VIN3 sogar in bis zu 50% beschrieben [44, 80]. Im eigenen Krankengut wurden anamnestisch oder konkurrierend bei 17% der VIN (25% der VIN3) und 8% der Karzinome Zervixdysplasien/ -karzinome gefunden. Kritisch ist zu bedenken, dass einige Patientenangaben in den Krankenakten mißverständlich oder uneindeutig und somit nicht auswertbar waren. Das mittlere Alter der "multizentrischen" Frauen war um ca. 10 Jahre jünger im Vergleich zum jeweiligen Gesamtkollektiv, was in 88% insbesondere bei Jüngeren mit dem HPV assoziiert wird [13, 143, 185]. Das immunsuppressive Bedingungen als pathogenetischer Langzeitfaktor mit dem Vulvakarzinom und den VIN assoziiert sind, zeigten 56-91% der Frauen in der eigenen Arbeit [4, 28, 30]. Diabetes trat in den eigenen Daten signifikant häufiger beim Karzinom als bei den VIN auf. Obwohl in der Literatur vergleichbar hohe Koinzidenzen beim Vulvakarzinom eruiert wurden konnte eine ätiologische Rolle bisher nicht belegt werden [31, 158].

Weder Reproduktions- und Menstruationscharakteristika wie Nulliparität, frühe Menarche, späte Menopause, noch die früher diskutierte Hypertonie, Adipositas oder der Alkoholabusus konnten als Einflußfaktoren bestätigt werden [4, 21, 31, 112, 129, 168, 190].

Anamnestische Angaben wie Lichen sclerosus, Hyperplasie, chronische Vulvitis oder Kraurosis als chronische Stressoren waren mit 26% beim Vulvakarzinom recht häufig und spielten bei den VIN mit 13% eine eher untergeordnete Rolle. Während einerseits eine geringe Entartungstendenz des Lichen sclerosus bis 5% beschrieben wird [63, 107], sprechen die Daten einer jüngsten Fall-Kontrollstudie mit bis zu 16% eher von Kausalität als von einer Koexistenz von Karzinom und Lichen sclerosus [27]. Dem chronischen „Streß“ begegnen Epithelzellen mit Reparationsversuchen unter erhöhtem Risiko einer genetischen Alteration und lokalen Entartung [27, 33, 178]. Zum anderen wirkt beim Vulvakarzinom zusätzlich das höhere Lebensalter als mutagener Kofaktor [32]. Das häufig metachrone Auftreten von Karzinomen auf dem Boden von Lichen sclerosus, seine signifikante Korrelation mit der älteren Karzinomsubgruppe als auch die vereinzelt nachweisbare p53-Mutation und DNA-Aneuploidie unterstützen die Hypothese einer Feldkanzerisation und die mögliche karzinogenetische Potenz des Lichen sclerosus im Alter [85, 177]. Andere Autoren verstehen die NNVD der Vulva eher als prädisponierende Terrainveränderungen für eine eigenständige neoplastische Entwicklung [56, 151]. Das kausal HPV für die Karzinomentwicklung auf dem Boden von NNVD verantwortlich wäre, ist eher unwahrscheinlich [46, 107, 198]. Inwieweit diese Läsionen als Promotor für eigenes karzinomatöses Wachstum oder prädisponierend als "Boden" fungieren ist unklar und bedarf weiterer Untersuchungen [27, 56, 63].

Das Rauchen wurde in großen Fall-Kontroll-Studien als Risikofaktor für das in situ und invasive Vulvakarzinom beschrieben ausgehend von der Hypothese, dass sich die inhalierten Karzinogene via Blut im Epithel der Genitalhaut ablagern [4, 45]. In zahlreichen Studien konnte ein Synergieeffekt von Nikotinabusus und HPV-Infektion auf das Krebsrisiko nachgewiesen werden [21, 35, 62]. Raucher waren in der vorliegenden Untersuchung 10-23 Jahre früher erkrankt an VIN oder Karzinom als die Nichtraucher, bei zusätzlicher HPV-Infektion verschob es sich um weitere 4 Jahre ins jüngere Alter. Gleiches beschreibt eine 2002 veröffentlichte Analyse [175]. Der Raucherinnenanteil war in beiden Entitäten unterrepräsentiert gegenüber der Literatur mit 66-80% bei den VIN [45, 80, 100, 127, 181] und 28-60% bei den Karzinomen [35, 79]. Ursache dafür könnte die retrospektiv nicht immer sicher dokumentierte Erfragung des anamnestischen Nikotinabusus sein. Eine Fall-Kontrollstudie beschreibt sogar eine Verdopplung des Erkrankungsrisikos bei Koinzidenz von HPV und Nikotingenuss gegenüber Nichtrauchern [62]. Dabei scheint die Virusinfektion karzinogen die Entartung der Plattenepithelzellen zu beschleunigen und in jüngerem Alter zum Ausbruch der Erkrankung zu führen [3, 16, 35]. Bei Genitalwarzen in der Anamnese wird neben der Risikoerhöhung (RR15,2%) ein signifikanter Zusammenhang bei zusätzlichem Nikotinabusus für die Krebsentwicklung an der Vulva beschrieben [21], während Genitalkondylome eher selten anamnestisch angegeben werden [80].

5.2.2 Symptomatik

Die Beschwerden der untersuchten Frauen waren ähnlich und unspezifisch, so dass letztlich nur die Kombination von Symptomatik und makroskopischem Vulvabefund richtungsweisend erscheint. Führend waren neben der getasteten Vulvaveränderung Juckreiz und Brennen, wobei die Karzinompatientinnen im Vergleich zur VIN häufiger über Brennen und Schmerzen klagten, ähnlich den Angaben anderer Autoren [8, 44, 71, 80, 152, 187]. Während Autoren eher selten durch die Frauen selbst ertastete Indurationen oder Tumore an der Vulva beschreiben [63], zeigten eigene Ergebnisse dieses häufiger. VIN war im Vergleich zum Karzinom signifikant häufiger asymptomatisch [175]. Andere beschreiben eine Asymptomatik bei den VIN sogar in 40-60% [32, 145]. Ähnlich den VIN sind die subjektiven Beschwerden kein Frühsignal des manifesten Vulvakarzinoms. Betrachtet man neben der häufig erst spät bemerkten und dann zum Arztbesuch drängenden Vulvaschwellung den meistens zuerst und einzig geklagten chronischen Pruritus bei 55-68% der hier untersuchten Frauen, so ist dieser immer klärungsbedürftig.

Bekannt ist, dass sich Frauen mit zunehmendem Alter seltener gynäkologisch vorstellen und auch seltener eine Selbstuntersuchung der Vulva durchführen, mögliche Beschwerden häufiger aus Angst verdrängen oder diese durch chronische Erkrankungen (z. B. Diabetes, Inkontinenz, Dermatosen) überlagert werden. In der vorliegenden Analyse lies sich eine Therapieverschleppung durch die Patientinnen selbst um zwei bis zweieinhalb Jahre feststellen, ähnlich den Ergebnissen anderer Autoren [44, 152]. Ursächlich dafür sind neben einer einschleichenden Symptomatik oder Asymptomatik auch die symptomatische Therapie ohne Kausaldiagnostik durch den Arzt, was in max. $\frac{1}{3}$ der Fälle in unserem Krankengut eine Rolle spielte [63, 80]. Nur 8 der insgesamt 134 Frauen wurden innerhalb von Krebsvorsorgeuntersuchungen diagnostiziert. Ursache dafür ist die meist schlechte Compliance älterer Frauen an diesem Programm. Auch eine sekundäre Prävention ist somit trotz günstiger Lokalisation an der Vulva weitgehend erschwert.

5.2.3 Lokalisation und Diagnostik

65-91% der VIN und Karzinome waren an den Labien insbesondere rechts an den kleinen lokalisiert, VIN in keinem Fall an der Klitoris, was den Angaben anderer Autoren vergleichbar ist [7, 56, 71-2, 158]. VIN trat vierfach (signifikant) häufiger multifokal an der Vulva auf als das Karzinom, was beim Blick in die Literatur mit 35-70% für die VIN [7, 14, 44, 72, 80, 127] und 28% für das Karzinom [71, 158] vergleichbar ist. Dafür könnte die höhere Virusinfektion der VIN gegenüber dem Karzinom verantwortlich sein.

Die meist weisslichen Vulvaveränderungen weisen auf eine Hyperkeratose/ Hautverdickung meist mit Schuppung/ Hornkrusten hin und bedürfen der differentialdiagnostischen Abgrenzung zum LS, den Condylomata acuminata und der Genitalmykose [162]. Hautrötungen werden durch Entzündungen, Erosionen oder Ulzerationen verursacht und sollten unterschieden werden vom Lichen ruber, Morbus Paget, allergischen Hautreaktionen, Genitalmykose sowie chronisch granulomatösen Erkrankungen [10, 197]. Multifokale, papulös braun-bläuliche Hyperpigmentierungen können neben VIN auch ein Melanom, Hämatom oder pigmentierte Condylomata signalisieren [72].

Die präoperative Vulvaabstrich kam im untersuchten Krankengut in 9-17% zur Anwendung, was sicher an der geringen diagnostischen Akzeptanz aufgrund schlechter Spezifität und Sensitivität der Zytologie liegt [63]. Jüngste Untersuchungen zur Vulvazytologie an einer großen Patientenzahl ergaben eine hohe Spezifität von 95% und Sensitivität von 98% für VIN und Vulvakarzinome [77]. Die Zytologie gilt in der Therapieverlaufskontrolle und Nachsorge

als wichtige Ergänzungsmethode. Für die Diagnose subklinischer Infektionen erscheint die Kolposkopie am empfindlichsten [171]. Bei Infektionsverdacht sollten gezielt Abstriche auf Bakterien, Pilze, ggf. HSV, HPV und Chlamydien erfolgen, was insbesondere im Rahmen von superinfizierten, häufiger fehlinterpretierten Vulvaläsionen bedeutsam ist.

Zur Identifikation der Exzisionsränder wurde die Essigsäure und anschließend unter Toluidinblauprobe die wide excision der VIN durchgeführt mit mikroskopisch in 48% positiven Absetzungsrändern. Ähnlich den Daten in der Literatur signalisiert dies deutlich, dass die Epithelveränderungen mikroskopisch weiter reichen als das essigweiße Areal [127]. Die Toluidinblauprobe (Collinstest) zeigt durch Blaufärbung der proliferationsaktiven Zellkerne karzinomverdächtige Areale an, denen durch Parakeratose eine ausdifferenzierte Oberflächenverhornung fehlt. Trotz hoher Fehlerrate bei Ulzera und Entzündungen erzielte dieser Test in einer jüngsten Untersuchung eine Sensitivität von 92% in der VIN-Diagnostik [82], während bei Hyperkeratosen hochdifferenzierter Karzinome oft falsch negative Ergebnisse auftraten [162]. Zur genauen Lokisationsdokumentation entnommener PE's erwies sich die Anfertigung einer Zeichnung oder eines Fotos als wertvoll (Vulvamapping), um Histologiebefunde genau einordnen und für die weitere Therapie interpretieren zu können. Die Stanzbiopsie mit seiner Eindringtiefe bis 10 mm ist der Knipsbiopsie durch Beurteilung der gesamten Hautdicke deutlich überlegen und sollte auch in der ambulanten Arbeit die Hemmschwelle einer gezielten Diagnostik bei einfacher Handhabung überwinden [131].

Zur präoperativen Diagnostik gehört das Thorax-Röntgen und die Leberultraschalluntersuchung und nur in fortgeschrittenen Stadien eventuell zusätzlich Zystos- und Rektoskopie, Nierenultraschalluntersuchung, Harnabflußdiagnostik sowie ggf. CT bei doch seltener Fernmetastasierung in Lunge, Leber und Knochen [1, 67, 163]. Im vorliegenden Krankengut waren immerhin 3 Frauen (2,7%) bereits in einer M1-Situation.

9% der unverdächtigen Inguinallymphknoten waren palpatorisch fehleingeschätzt, was unter den Angaben in der Literatur mit bis zu 61% liegt [18, 67]. Mit 17% klinisch falsch positiv beurteilten LK entsprechen die Ergebnisse den Zahlen anderer Autoren [63]. Neben der Subjektivität des Untersuchers wird hier auch die Einschränkung der FIGO-Einteilung deutlich.

5.3 Therapie

Die VIN sollten angesichts der relativ geringbeschriebenen Progressionsrate schonend und funktionserhaltend therapiert werden. Die wide excision und bei ausgedehnten Befunden auch

"skinning-vulvectomy" war im vorliegenden Krankengut die Therapie der Wahl und ersetzte zunehmend die in den Anfangsjahren noch durchgeführte einfache Vulvektomie und Hemivulvektomie der VIN [2, 80, 175]. Bei ausgedehnt multifokalen VIN stellt neben der Laservaporisation die "skinning-vulvectomy" nach ausreichender bioptischer Diagnostik eine adäquate Therapie dar [7, 10, 14, 34, 112, 166]. Therapieversager bzw. Rezidive der VIN sind eher Folge der chronisch aktiven Virusinfektion, als das ein Einfluß der Behandlungsmethode festzustellen wäre [44, 57, 83, 100, 150]. Eine Studie beschreibt dagegen beim Follow up von 130 VIN signifikant häufiger Rezidive nach Laservaporisation als nach Lokalexzision [61]. Zum sicheren Ausschluß okkultur Invasionen in ca. 20% ist die Laserexzision der Vaporisation vorzuziehen [74]. Der Anteil primär inkomplett resezierter VIN war in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zum Karzinom (48% vs. 9%) signifikant erhöht. Ähnlich den Ergebnissen anderer Autoren spiegelt das die Problematik einer präoperativen Ausbreitungserfassung der häufig multifokalen und subklinischen Hautveränderungen bei der intraepithelialen Neoplasie wider [80, 83, 127].

Die FIGO-Verteilung beim Vulvakarzinom der vorliegenden Arbeit ist vergleichbar mit größeren Studiendaten der Literatur [152]. Die in 74% beim Vulvakarzinom durchgeführte radikale Vulvektomie mit inguinofemorale Lymphonodektomie von getrennten Inzisionen aus (selten zusätzliche Exenteration) entspricht den Angaben in der Literatur [17, 73, 110-1, 158-9, 169]. Andere beschreiben lediglich in 30-48% eine Radikaloperation bei doch höherem mittleren Alter von 69-72 Jahren der erkrankten Frauen und höherer Morbidität [19, 140]. Kritisch ist zu bewerten, das das prätherapeutische (klinische) Staging nur in etwa 75% dem pathologischen Stadium entsprach [63]. Das Stadium Ia für das mikroinvasive Vulvakarzinom mit sehr geringem Metastasierungsrisiko widerspiegelt den direkten Einfluß der Invasionstiefe auf die lymphonodale Metastasierung und formuliert die Möglichkeit des Verzichtes auf die Lymphonodektomie. In 5 der 6 Fälle im Stadium Ia war retrospektiv betrachtet die erfolgte bilaterale Lymphonodektomie ein "overtreatment", was den Angaben aus anderen Studien vergleichbar ist [88, 114, 116, 118, 158] und mit Erhöhung der operativ bedingten Morbidität einhergeht. Ursache scheint neben der klinischen Fehlbeurteilung des Nodalstatus oder der Größenausdehnung des Vulvatumors die am Biopat bzw. im Schnellschnitt nicht immer sicher beurteilbare Invasionstiefe zu sein.

In immerhin $\frac{2}{3}$ aller lymphonodektomierten Frauen sowie in keinem operierten T1-Stadium fand sich in der eigenen Untersuchung eine lymphonodale Metastasierung. Insbesondere in den frühen Tumorstadien mit ca. 80% negativem LK-Status ist das Risiko einer Übertherapie zu diskutieren [55]. Palpation, Ultraschall oder MR bleibt unzuverlässig [63, 67, 170]. In

Anbetracht des Lebensalters mit hoher Morbidität wäre die Vermeidung einer unnötigen Leistenlymphknotenausräumung bedeutsam. Eine frühzeitige Identifikation der inguinalen LK-Metastasen ermöglicht die Methode des intraoperativen Stagings des Sentinel-node mittels Technetium mit recht hoher Detektions- und Sensitivitätsrate. Inwieweit bei fehlender Metastasierung im Sentinel-LK auf eine Komplettierung der inguinalen Lymphonodektomie zukünftig verzichtet werden kann bedarf weiterer Studien [55, 116, 176].

5.4 Histologie

5.4.1 Ätiomorphologie und Tumorgruppen

Die durch Studien von Toki, Crum und Andersen mit ihren Kollegen begründete Hypothese von zwei ätiologisch unterschiedlichen Entitäten des Vulvakarzinoms und seiner Vorstufen wird durch eigene Beobachtungen unterstützt [3, 31, 180]. Zum einen ließ sich eine jüngere Frauengruppe mit "warty-basaloidem" Karzinom definieren, die alle Raucherinnen erfasste, in 24% Multifokalität/-zentrität und in 33% eine Virusinfektion aufwies (91% der HPV-infizierten Karzinome waren vom warty-basaloiden Typ). Im Vergleich fand sich in der Karzinomgruppe vom histologisch verhornenden Typ ein signifikant höheres Lebensalter mit lediglich 5% HPV-Infektionsrate und Multizentrität. In keinem Fall war Nikotingebrauch bekannt oder multifokales Wachstum, was signifikant diese beiden Karzinomgruppen unterschied. In unseren Untersuchungen zeigte das verruköse (klassisch verhornende) Vulvakarzinom angrenzend seltener VIN (30%), dagegen mit 70% häufiger NNVD als das basaloid-warty Karzinom. Diese Verteilung des angrenzenden Gewebes fand sich auch in der Literatur [101, 132, 180]. Beim verhornenden differenzierten Plattenepithelkarzinomtyp wird eine Assoziation mit höherem Lebensalter, HPV-Negativität, Unifokalität und angrenzender NNVD in der Literatur beschrieben [27, 124]. In einer klinikopathologischen Studie favorisieren Yang & Hart durch Nachweis einer strengen Beziehung zum verhornenden Karzinom die differenzierte VIN simplex als mögliche Vorstufe [198]. Ähnlich den eigenen Ergebnissen beschreiben verschiedene Autoren zwischen den beiden histologischen Karzinomgruppen signifikante Unterschiede bezüglich mittlerem Alter, Alter unter 55 Jahre, HPV-Positivität, Raucherstatus und tumorangrenzendem Epithel [68, 181].

Inwieweit Hyperplasie oder Lichen sclerosus Vorstufen des verhornenden Vulvakarzinoms darstellen bedarf weiterer Langzeitstudien. Denkbar ist gerade auch durch jüngste molekulare Untersuchungen eher eine mit zunehmendem Lebensalter genetische Alteration im Sinne

einer von Slaughter 1953 erstmalig beschriebenen "field cancerization" auf dem Boden einer chronischen Epithelirritation wie NNVD [27, 33, 130, 151, 178]. Andererseits wurden polyklonale Epithelhyperplasien angrenzend zu HPV-negativen Karzinomen der Vulva nachgewiesen und geschlußfolgert, das diese Läsion keine direkte Vorstufe darstellt [90].

Die morphologische Typisierung der minimal invasiven Karzinome gestaltete sich schwierig und war bei den VIN bei kleiner Fallzahl nicht eindeutig möglich, so dass ähnlich den Schwierigkeiten anderer Autoren keine Einteilung vorgenommen wurde [79, 83, 94, 188]. Es gibt Hinweise einer ätiologischen Heterogenität innerhalb der Präneoplasien [32, 54, 72, 101, 138, 180, 198]. Anhand der Fokusart, Zentrität, angrenzender Gewebeeralterationen, Rezidivrate, p53 und gynäkologischer Anamnese lies sich in den vorliegenden Daten eine differente jüngere und ältere Gruppe erkennen (in Tabelle 5 bis 8).

Die jüngere Frauengruppe mit 40 Jahren und multifokal-multizentrischer VIN versammelte alle Raucherinnen, war in 82% virusinfiziert, überwiegend (91%) hochgradig dysplastisch und wies lediglich einmal angrenzend einen LS und eine Plattenepithelhyperplasie auf. In mehr als der Hälfte fand sich ein positiver Absetzungsrand und in 60% frühe Lokalrezidive, wohingegen bei Unterscheidung nach HPV-status oder Rezidivgruppen (Tabelle 7 und 10) widersprüchliches Rezidivverhalten ohne klare o.g. Zuordnung einer Frauengruppe zu diskutieren ist. Auch ist bei diese Rezidivunterschied in Tabelle 5 der Einfluß des hohen Anteiles an VIN3 und positivem Absetzungsrandes der jüngeren Gruppe nicht zu vernachlässigen. Keine VIN der unter 50 Jährigen war p53-positiv. Multifokale VIN wird mit deutlich jüngerem Alter sowie HPV assoziiert und als mögliche Vorstufe des basaloid-warty Karzinoms bei ähnlichem Risikoprofil postuliert [72, 101, 181]. Davon war eine ältere VIN-Gruppe mit unifokal/-zentrischem Wachstum, 100%igem Nichtraucheranteil und anamnestisch leerer Condylomanamnese abzugrenzen. Diese Gruppe umfasste nur zur Hälfte hochgradige Dysplasien, zeigte angrenzend überwiegend unauffälliges und nichtdysplastisches Epithel und rezidierte in $\frac{1}{3}$ der Fälle frühestens nach 2 Jahren. Eine ähnliche klinisch morphologische Studie an größerer Fallzahl zeigte eine signifikante Assoziation zwischen höherem mittleren Alter und differenzierter VIN mit angrenzendem LS ohne morphologische Unterschiede in Subtypen [54].

5.4.2 Tumorangrenzende Epithelveränderungen

Es gibt nur wenige Literaturdaten zu angrenzenden Gewebeeränderungen der VIN und Vulvakarzinome. Die eigene Analyse zeigt bei einen signifikanten Unterschied in der

Verteilung des angrenzenden Gewebes von VIN und Karzinom (Tabelle 23). Während die VIN bevorzugt dysplastisches und normales Epithel angrenzend zeigte, lies sich beim Karzinom insbesondere der älteren Frau eine Verschiebung zugunsten nichtneoplastischer Veränderungen erkennen. Mit fortschreitendem Lebensalter scheint es durch das chronische Einwirken onkogener Kofaktoren auf das Vulvaepithel z.B. durch Nikotin, HPV, Entzündung, Immunsuppression, Minderversorgung etc. zur metabolischen und proliferativen Aktivierung der Epithelzellen zu kommen, was die Prädisposition für eine Entartung schafft [27]. Reaktionen wie Epithelhyperplasie oder Lichen sclerosus angrenzend zum Karzinom könnten einerseits rein reaktiver Natur sein, andererseits aber auch kausal metachron auftretend betrachtet werden insbesondere unter dem Aspekt nachgewiesener neoplastischer Epitheleigenschaften (p53-Mutationen, DNA-Aneuploidie, Monoklonalität) und maligner Entartungspotenz [26, 56, 63, 85, 90, 107, 151, 177-8]. Die letztgenannten Ergebnisse unterstützen die klonale Hypothese der Karzinomentstehung über lokale genetische Epithelalterationen, die im Alter in den Vordergrund treten [27, 31, 178]. In jüngerem Alter spielt ausgehend vom ätiologisch dualistischen Modell wahrscheinlich das HPV und Nikotin eine entscheidende Rolle in der Entwicklung eines "jungen" Vulvakarzinoms schrittweise über die lokale VIN in angrenzend noch unverändertem Epithelgebiet (kaum p53-Überexpressionen angrenzend zu finden, Tabelle 8). Die Synergie Nikotin und HPV als Risikofaktoren spielen wahrscheinlich im Alter eine untergeordnete Rolle [46, 107, 198].

Für das Karzinom wird in lediglich 5-11% normales Plattenepithel angrenzend angegeben in der Literatur, was den eigenen Ergebnissen mit 6% vergleichbar ist [49, 84, 119]. Die NNVD werden in der Literatur mit 45-59% häufig neben einem Vulvakarzinom gefunden, ähnlich den eigenen Zahlen [25, 49, 85, 119, 124, 154, 199]. Das im eigenen Untersuchungsgut karzinomangrenzend häufiger NNVD als dysplastische Veränderungen auftreten unterstreicht die Rolle präexistenter Hautveränderungen im Werdegang des Karzinoms [27, 151, 188].

Vergleichbare Häufigkeiten für dysplastische und hyperplastische Epithelveränderungen herdnah zum Karzinom wurden gefunden [25, 49], andere Autoren geben niedrigere Zahlen an [107, 119, 124, 147, 154, 181]. Inwieweit die VIN als Epithelreaktion auf das Karzinom zu betrachten ist oder eigenes neoplastisches Potenzial besitzt, ist unklar [33, 90, 178].

5.4.3 Die Beziehung histologischer Parameter zum Nodalstatus

Der LK-Befall inguinal mit 33,3% der operierten Vulvakarzinome lag vergleichbar den Literaturangaben [19, 67]. Andere Studien fanden etwas höhere Metastasierungsraten bis 50%

[1, 17, 140, 153, 158].

Stärkster prognosebestimmender Faktor ist das Tumorstadium mit Tumordurchmesser und Invasionstiefe [18, 66, 95, 102, 152, 169]. Während auch die eigenen Daten keinen LK-Befall bis 21mm Tumordurchmesser und bis 1mm Tiefeninfiltration nachwiesen, beschrieben Autoren in bis zu 10% dieser Fälle Metastasen mit signifikantem Anstieg der Metastasierung bei Zunahme des T-Stadiums und der Invasionstiefe [17-8, 67, 146, 158, 169]. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen eine eingeschränkt radikale Therapie mit Verzicht auf die Lymphonodektomie im Stadium T1 mit max. 1mm Invasionstiefe [111, 114, 182].

Nach Meinung einiger Autoren ist der prognostische Einfluß der Karzinomlokalisierung auf die LK-Metastasierung umstritten [67, 102]. Bei klar unilateralem Tumorsitz fand sich in den eigenen Untersuchungen eine zumeist ipsilaterale LK-Metastasierung, 5 Karzinome im FIGO IV mit nicht streng lateralem Sitz sowie die median lokalisierten Karzinome zeigten einen bilateralen LK-Befall [41]. Schlecht differenzierte Karzinome metastasierten doppelt so häufig wie die G1/2 Vulvakarzinome in der vorliegenden Arbeit, vergleichbar den Angaben anderer Autoren [67, 73, 95, 111, 146, 152, 169]. Bei kompaktem Wachstumsmuster zeigte sich prognostisch gegenüber dem diffus oder gemischt wachsendem Karzinom eine geringere lymphonodale Metastasierung, was die Bedeutung morphologischer Beurteilungskriterien des Karzinomwachstums unterstreicht [18, 73, 193].

Zur Bedeutung der Multifokalität für den Nodalstatus finden sich kaum Literaturangaben, während eine Analyse an 90 Vulvakarzinomen in der Literatur gegensätzlich zum eigenen Ergebnis die Multifokalität mit seltenerem LK-Befall beschreibt [111]. Einschränkend ist jedoch anhand der eigenen analysierten Karzinome mit lediglich 10% Multifokalität eine Aussage zum Einfluß kaum möglich. Eine geringes Rundzellinfiltrat an der Tumorfront sowie ein Lymph-/ Gefäßeinbruch des Karzinoms korrelierte mit Zunahme des Inguinalbefalls [1, 18, 67, 113, 146, 157]. Ähnlich den Untersuchungen anderer Autoren führten Nekrose- und Ulzerabildung im Karzinom zur prozentualen Verdopplung des Nodalbefalls [102, 146]. Wenige Daten in der Literatur sind zur Prognosebeurteilung der zwei Karzinomsubgruppen verfügbar. In den vorliegenden Ergebnissen lässt sich für die inguinale Metastasierung kein Zusammenhang finden (Tabelle 15). Hat sich das Karzinom erst einmal entwickelt, scheint der morphologische Subtyp keinen Prognoseunterschied zu bilden [68-9, 101, 132].

Das karzinomangrenzende Epithel ist insofern prognostisch bedeutsam, stellt es doch den „Boden“ für die maligne Entartung dar bzw. ist Resultat einer Reaktion auf chronisch-regenerative Stimuli. Zur prognostischen Bedeutung angrenzend nichtneoplastischer Epithelläsionen existieren widersprüchliche Aussagen [26-7, 31, 178]. Während einige

Studien keine prognostische Bedeutung des angrenzenden NNVD fanden [6, 154], sprechen andere für ein erhöhtes malignes Potenzial [151]. Bei Betrachtung eigener Resultate zeigte der LK-Befall zwischen peritumoral ausschließlich nichtdysplastischem und normalem/atrophem Gewebe keinen Unterschied. Interessanterweise fanden sich für Karzinom und VIN gleichermaßen bei umgebend gemischt dysplastischen Veränderungen (nur NNVD und VIN) keine bis sehr wenige LK-Metastasen (Tabelle 6, 17), wobei hier mehrheitlich die Plattenepithelhyperplasie als NNVD auftrat. Ein Blick in die Literatur zeigt keine vergleichbaren Untersuchungen zu diesen Daten. Unter Berücksichtigung der in folgenden Kapiteln beschriebenen p53- und MIB1-Expression dieses peritumoralen Epithels könnte die proliferativ aktive Hyperplasie reparativ wirksam die Ausbreitung und Invasion des Karzinoms auf dem Boden einer VIN verzögern bzw. hemmen.

Das die karzinomangrenzende VIN prognostischen Einfluß hat, konnte anhand eigener Ergebnisse bei isolierter VIN mit dem höchsten prozentualen LK-Befall gegenüber anderen peritumoralen Gewebeveränderungen bestätigt werden [147, 154].

5.5 HPV und Immunhistochemie (p53 und MIB1)

5.5.1 HPV

Dass eine große Anzahl der VIN sowie ein Teil der Vulvakarzinome HPV assoziiert sind und diese Infektion in der Karzinogenese bedeutsam ist, wurde in der Literatur hinreichend dokumentiert [15, 37, 52, 69, 71, 75, 97, 106, 122, 143, 198]. Mittels Histologie und IsH zeigte sich mit 74% eine signifikant höhere Virusinfektionsrate der VIN gegenüber den invasiven Karzinomen, vergleichbar den Beobachtungen anderer Autoren [37, 144]. Die IsH wies in der eigenen Analyse in 67-88% der untersuchten VIN und Karzinome eine Durchseuchung mit den HR HPV 16, 18 auf. Die LR HPV 6, 11, 42 dominieren laut Literatur in benignen Läsionen wie Condylomata acuminata oder in niedriggradiger VIN [134, 150]. Das Vulvakarzinom entsprach mit 23% Virusinfektionsrate den Literaturangaben von 16-48% [3, 6, 16, 20, 68, 107, 124, 132, 155]. Die Prozentangaben zur Virusinfektion variieren beim Vulvakarzinom und bei der VIN stark, was sich neben unterschiedlicher HPV-Infektion in den Subkollektiven auch durch verschiedene Empfindlichkeit der Methoden (z.B. Histologie, IsH, PCR, Southern blot) erklären lässt [61, 83, 128, 134, 138, 181]. Die genutzten Methoden Histologie und IsH müssen im Literaturvergleich kritisch in ihrer Aussagekraft diskutiert werden. Die Histologie als sensitive Methode ist als „diagnostischer Test“ wenig spezifisch.

Wenn auch der Ergebnisvergleich der Histologie und Hybridisierung der Literatur entsprach, so kann einerseits die ursächlich virusbedingte Koilozytose durch Glykogeneinlagerung nachgeahmt werden und andererseits mit anderen Methoden in histologisch unverdächtigen Zellen HPV nachweisbar sein [43, 48, 133, 138, 171]. Vorteile der IsH sind die direkt dem morphologischen Bild zuordbaren Positivsignale und die an formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe einfache Screening- bzw. Typisierungsmöglichkeit [50]. Im Vergleich zur PCR ist diese Methode weniger sensitiv, so dass neben dem Problem der DNA-Abnahme bei länger gelagertem oder inadäquat fixiertem Gewebe auch subklinische Virusinfektionen nicht sicher nachweisbar sind [6, 89].

Ähnlich den Angaben anderer Autoren zeigte das Fehlen oder Vorhandensein einer HPV-Infektion bei der VIN und beim Karzinom keine Altersdiskriminierung [6, 16, 54, 124]. Das Finden von HPV über eine breite Altersspanne drückt seine Rolle in der Vulvakarzinogenese in jedem Lebensabschnitt aus. Andere Studien beschreiben die HPV-Infektion signifikant in jüngerem mittleren Alter [3, 16, 61, 68, 180].

Raucherinnen mit virusinfizierter Vulvaläsion erkrankten jünger als Raucherinnen ohne Infektion in der eigenen Analyse. Auch war der Nikotingenuß bei den Frauen mit HPV-positiven Karzinom höher als ohne Virusinfektion, die VIN zeigte dies nicht. Ähnliche Daten der Risikoerhöhung für junge Raucherinnen an VIN und Vulvakarzinom zu erkranken, wenn eine HPV-Infektion vorliegt finden sich in der Literatur [16, 121, 128]. Nikotin scheint als wichtiger Kofaktor mit dem HPV synergistisch zu interagieren [62, 144]. Die eigene retrospektive Analyse birgt natürlich unter dem Aspekt der Anamneseerhebung zum Nikotingebrauch Fehlerquellen. Auch die in der Arbeit bevorzugt histologische HPV-Identifikation ist bei der Ergebnisbewertung kritisch zu betrachten.

In der vorliegenden Untersuchung war HPV im (jüngeren) warty-basaloiden Karzinomtyp signifikant erhöht gegenüber dem verrukösen Typ [68, 128, 181]. Diese Ergebnisse entsprechen der Hypothese einer HPV bezogenen Karzinomätiologie in jüngeren Alter und einer eher virusunabhängigen bei älteren Frauen. Andere Autoren beschrieben keine Korrelation von Karzinomsubtyp und HPV-Infektion [84, 132]. Die virusassoziierten Vulvakarzinome und VIN traten häufiger multizentrisch/ multifokal auf, ähnlich den Angaben anderer Autoren [13, 69, 71, 124, 185].

Über die Beziehung von angrenzendem Gewebe zur Virusinfektion des Tumors lassen sich Unterschiede diskutieren, wenn auch kaum Literatur existiert. Das virusinfizierte Karzinom zeigte eine Assoziation zu angrenzender VIN [124].

Die Daten zur Beziehung zwischen HPV und p53 in der Literatur sind sehr begrenzt. Studien beschreiben an Karzinomen bzw. Dysplasien unterschiedlicher Lokalisation eine mehrheitlich inverse Korrelation und nur wenige berichten über Koexpressionen [9, 90, 94, 122, 125, 179]. Tendenziell trugen in der vorliegenden Untersuchung die virusnegativen Vulvakarzinome und VIN häufiger p53-Überexpressionen als die positiven [86, 106, 142, 156]. In dieser Arbeit waren in 15% der Karzinome und 21% der VIN Koexpressionen nachweisbar. Eine Koexistenz von HPV und p53-Expression könnte wie folgt interpretiert werden: Die HPV-Infektion als Initialereignis führt nachfolgend zur rapiden Degradation des wt p53 mit klonalem Wachstumsvorteil der infizierten Zellen oder diese Vulvaläsionen tragen p53-Genmutationen und werden dann sekundär mit HPV infiziert [106, 142, 156, 192]. Während einige Studien bei HPV-Infektion eine schlechtere Prognose (Rezidivrate und LK-Metastasierung) beschreiben [71, 132, 134], fanden andere eine bessere [6, 128]. Zahlreiche Untersuchungen verneinen einen prognostischen Einfluß von HPV [3, 16, 20, 68-9, 86]. Vorliegende Daten sprechen für eine erhöhte Rezidivrate des Karzinoms bei Virusinfektion, für die VIN war eine Aussage wegen geringer Fallzahl nicht möglich.

5.5.2 Immunhistochemie

Mutationen im p53-Tumorsuppressorgen zählen zu den häufigsten molekularen Ereignissen in plattenepithelialen Neoplasien und spielen in deren Karzinogenese sowie Progression eine wichtige Rolle [24, 136]. Das antionkogen aktive p53 bewirkt durch seinen antiproliferativen und proapoptotischen Effekt eine Zellregulation mit Verhinderung der Entwicklung eines Karzinoms [105]. Der Funktionsverlust der p53-Regulation bewirkt letztendlich eine genetische Instabilität mit Enthemmung der onkogenen Aktivität und unkontrollierter Proliferation abnormer Zelllinien [12, 149]. p53-Mutationen in 24-86% der Vulvakarzinome weist diese als ein wichtiges Ereignis mit pathogenetischer und prognostischer Bedeutung aus, wobei zur VIN wenige Daten mit Schwankungen von 0-31% existieren [22, 39, 85-6, 90, 94, 106, 119, 122, 142, 157, 189]. Die eigene Analyse ergab eine p53-Überexpression in 32% der VIN und 57% der Vulvakarzinome. Die prozentualen Diskrepanzen zur Literatur insbesondere für die VIN sind neben unterschiedlich klinisch-histologischen Parametern der Studienpopulation auch der verschiedene HPV-Status und seine Detektionsmethoden. Der hier in der Arbeit verwendete Antikörper DO7 erkennt die Wildtyp- und mutierte Form des p53-Proteins. Nur das mutierte p53-Protein akkumuliert aufgrund verlängerter Halbwertszeit in der betroffenen Zelle und wird dadurch immunhistochemisch erfaßt [93]. Methodenkritisch

liegt der Akkumulation nicht grundsätzlich eine p53-Genmutation zugrunde [9]. Zum anderen schließt ein negativer immunhistochemischer Befund eine Mutation nicht aus [12, 92]. Studien wiesen jedoch eine gute Korrelation zwischen immunhistochemischem Ergebnis und der Detektion von p53-Mutationen durch andere Methoden nach [29, 161].

Geht man davon aus, dass eine Überexpression in VIN und auch im karzinomangrenzenden unauffälligen Epithel und NNVD bis 43% (Tabelle 21) gefunden wurde, ist von einem häufigen und relativ frühen Ereignis in der Karzinogenese auszugehen [27, 39, 85, 122, 177, 198]. Die beobachtete Zunahme der p53-Alteration von der VIN zum Karzinom, verursacht durch Genmutation oder durch Inaktivierung mittels Viruskoproteine, scheint mit dem Fortschreiten der Erkrankung im Zusammenhang zu stehen [93, 122, 142]. Eine jüngste Studie fand vergleichbare Prozentzahlen mit einer geringeren p53-Expression der VIN gegenüber der Vulvakarzinome (31% vs. 54%) [22]. Bei vergleichbarer Virusinfektionsrate beschreiben andere Studien ähnliche p53-Überexpressionen in insgesamt 137 Vulvakarzinomen [85, 108, 119]. Während in einigen VIN eine höhere p53-Überexpression (61%) mit geringerer Virusinfektionsrate beschrieben wurde [108], fanden andere kleine Studien mit insgesamt 34 VIN3 bei hoher Virusdurchseuchung von 93-100% mittels PCR keine p53-Expression und schlossen diese Genmutation in der Erstphase der Pathogenese aus [94, 142].

Differenzialdiagnostisch hilfreich gelang mittels p53-Überexpression im gesamten Epithel beim differenzierter VIN3 die sonst schwierige Abgrenzung zur VIN1 [198].

45% (19/42) des karzinomangrenzenden Epithels hatten eine p53-Überexpression mit höherer Expression angrenzend zum p53-positiven als zum negativen Karzinom (60% vs. 24%). Andere Autoren beschreiben gering niedrigere Positivitäten mit 26-32% bei ähnlicher Verteilung [85, 119]. Ähnlich dem Ergebnis einer größeren Untersuchung mit 52% [119] zeigte karzinomangrenzender VIN in dieser Arbeit mit 48% die höchste p53-Expressivität und liegt damit höher als 17% in anderen Studien [85, 122]. Eine p53-Positivität im peritumoral normalen Plattenepithel zeigte sich in 16% im eigenen Klientel [85]. p53-Negativität im vulvären Normalgewebe tumorangrenzend wird ebenfalls beschrieben [119]. Das auch am Plattenepithelkarzinom an anderer Lokalisation karzinomnah im normalen Plattenepithel p53-Expressionen nachgewiesen wurden spricht für Genmutationen bereits im lichtmikroskopisch unauffälligen Rand der Karzinome [53, 135, 174]. Die vorliegende Analyse ergab in 26% p53-Expressionen im angrenzenden LS und der PE-Hyperplasie (NNVD), vergleichbar einer Studie mit 20% [85]. Zwei Studien, darunter eine Fall-Kontrollstudie fanden eine signifikant erhöhte p53-Überexpression und Aneuploidie im NNVD gegenüber normaler Vulvahaut [27,

177]. Eine andere kleinere Untersuchung zeigte keine p53-Überexpression sowie eine Polyklonalität in angrenzender Epithelhyperplasie und verneint somit deren Rolle als Krebsvorstufe [90]. Angrenzend "nur NNVD und VIN" zeigte zum normalen/atrophen Epithel eine vergleichbar niedrige p53-Positivität in den eigenen Daten, wohingegen eine signifikant höhere p53-Expression bei Vorkommen von "NNVD und VIN" gegenüber "NNVD" in einer Studie beschrieben wurde [119]. Vom normalen Epithel über NNVD und VIN zum Karzinom hin lies sich eine allmähliche Zunahme der p53-Überexpression feststellen [85]. Für die Tatsache, das synchrones nichtneoplastisches Epithel, normale Vulvahaut und VIN eine p53-Überexpression zeigen, gäbe es mehrere kontrovers diskutierte Erklärungen. Einerseits könnte es für deren karzinogenetische Potenz durch genetische Fixierung von Mutationen sprechen, die durch virale Onkogene bzw. durch Inaktivierung essenzieller Schlüsselproteine der Zelle ausgelöst werden. Andererseits tritt physiologisch als reparative Zellantwort auf Reize eine wt p53-Überexpression (HWZ-Verlängerung und Stabilisierung) auf und könnte eher sichtbarer Marker für den momentanen Einfluß schädlicher Noxen sein [136, 149]. Letztlich führt der chronische Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens zu unkontrolliertem (klonalem) Wachstum tumorigener Zellklone im Sinne einer klonalen Feldkanzerisation [12, 178]. Berichte über die Korrelation von p53-Expression und Prognose sind zahlreich und widersprüchlich. Während einige Autoren bei Überexpression eine schlechtere Prognose und erhöhtes Rezidivrisiko in verschiedenen Malignomen beschreiben [92, 122, 142], wird von anderen eine prognostische Bedeutung verneint [29, 39, 42, 51, 86, 106, 135]. Das Vulvakarzinom zeigt laut Literatur keine signifikante Korrelation zwischen p53 und Parametern wie Alter, FIGO, Karzinomtyp, Differenzierungsgrad, Absetzungsrand, Tumordurchmesser und Lymphgefäßinvasion [51, 65, 85, 119, 157]. Bezüglich Alter, Karzinomsubtyp und Rezidivrate zeigten die eigenen Daten keinen Zusammenhang, aber eine signifikante Korrelation der p53-Überexpression mit positivem LK-Status [85, 142]. Bei angrenzend ebenfalls p53-Positivität zeigten die Karzinome eine erhöhte Aggressivität mit Fernmetastasierung im Verlauf.

In Studien korrelieren Expressivität sowie Expressionsmuster des Proliferationsmarkers MIB1 signifikant mit Differenzierungs- und Dysplasiegrad des invasiven Plattenepithelkarzinoms und der VIN [22, 40, 87, 117, 126, 165, 186]. In der eigenen Analyse kumulierten Fälle mit günstigem Tumorigrad bzw. niedrigem VIN-Dysplasiegrad in der Gruppe mit niedriger Wachstumsrate, schlechter differenzierte Tumoren bzw. höhergradige VIN mit höherer Proliferation. Die beobachtete Expressionssteigerung bis in höhere Epithellagen bei Dysplasiezunahme erleichterte ähnlich wie das p53 die Unterscheidung zwischen VIN1 und

differenzierter VIN2-3 [184, 186]. Inwieweit diese Unterscheidung prognostisch nutzbar sein kann, bedarf weiterer prospektiver Untersuchungen. VIN und Karzinom hatten eine annähernd gleiche Proliferationsaktivität [117]. Die VIN wies in eigenen Ergebnissen im Kontrast zum Karzinom zwischen MIB1 und p53 eine gleichsinnige Beziehung in der Expression auf mit Rezidivzunahme bei höherer Expression beider Marker [65]. Beim Vulvakarzinom zeigte MIB1 wie in drei kürzlich erschienenen Studien keinen prognostischen Einfluß auf das Rezidivverhalten [22, 65, 126].

5.6 VIN und Vulvakarzinom im Verlauf

Die Verlaufsbetrachtungen in der vorliegenden Untersuchung konzentrierten sich auf das Rezidivverhalten der VIN und Vulvakarzinome. In der vorliegenden Arbeit verblieben 78-86% der Patientinnen in der Nachsorge. In keinem Fall fand ein Progress der nachbeobachteten VIN zum Karzinom statt. In der Literatur existieren kontroverse Angaben von 0-10% [13, 32, 61, 76, 80, 83, 127, 173, 175, 197]. Während bis zu 38% Spontanregressionen bei den VIN beschrieben werden [23, 78, 162], gehen andererseits 7 von 8 unbehandelten VIN3 innerhalb von nur 4 Jahren in ein Karzinom über [80]. Die Progresspotenz der zumeist therapierten VIN ist insgesamt schwer beurteilbar. 1,8% der 111 Karzinompatientinnen in dieser Arbeit wiesen im anamnestischen Vorfeld eine histologisch gesicherte VIN auf.

Die VIN- Rezidivrate mit 50% im vorliegenden Krankengut entsprach den Angaben in der Literatur von 22-65% [32, 47, 61, 83, 100, 127, 175]. Eine Studie fand an 61 VIN3 die Rezidivgruppe signifikant jünger [83], was nur zum Teil im Gegensatz zu den eigenen Daten steht. Die Rezidivgruppe in den eigenen Daten umfasste einen höheren Anteil an Frauen mit p53-Expression, die signifikant älter waren und somit das mittlere Alter verschoben, denn der prozentuale Anteil an jüngeren Frauen war in der Rezidivgruppe etwas höher im Vergleich zur Gruppe ohne Rezidiv. Eine klare Rezidivaussage der VIN-Entitäten war aus den eigenen Daten nicht eruierbar, weil widersprüchlich. Das neben der Multifokalität/-zentrität das Rauchen, ein positiver Absetzungsrand, hoher Dysplasiegrad aber auch eine p53-Überexpression steigenden Einfluß auf die Rezidivrate der VIN haben, lies sich anhand eigener Ergebnisse bestätigen [45, 83, 100, 127, 175].

Das Vulvakarzinom rezidierte in 34% der Fälle und damit (nicht signifikant) seltener als die VIN. Laut Studien geht man von einer Karzinomrezidivrate von 25-37% aus [113, 147, 153]. Für das Vulvakarzinom wurden FIGO, Lymph-Gefäßeinbruch, positiver Absetzungsrand und

angrenzend VIN2-3 als Prognosefaktoren für Rezidive beschrieben [147]. Der prognostische Einfluß der Karzinomlokalisierung ist unklar, während ein sog. Mittelstreifenbefall früher und häufiger bilateral streuen soll [41, 67, 102]. Während sich für den Karzinomsubtyp ähnlich den Angaben in der Literatur kein Prognoseunterschied erkennen lies [68-9, 101, 132], fanden andere Untersuchungen im Gegensatz ein multifokales Auftreten mit erhöhtem Rezidivrisiko assoziiert [80, 147]. Ein tumorfreier Absetzungsrand ging mit geringerer Lokalrezidivrate beim Karzinom einher, wobei als Abstand mindestens 8 mm zwischen Tumorausläufern und Resektionsrand bedeutsam sein soll [36, 59, 153].

Das die karzinomangrenzende VIN prognostischen Einfluß hat, konnte anhand eigener Ergebnisse für das Karzinom und seine Krebsvorstufe die VIN bestätigt werden [147, 154]. Die Karzinomrezidivgruppe zeigte am häufigsten angrenzend "nur NNVD" (46% vs. 26%) gefolgt von "nur VIN" (2% vs. 24%). Zur prognostischen Bedeutung angrenzend nichtneoplastischer Epithelläsionen existieren widersprüchliche Aussagen [6, 26-7, 31, 154, 178]. In der Rezidivgruppe der Karzinome und VIN fanden sich deutlich seltener umgebend gemischt dysplastische Veränderungen (NNVD mit VIN) im Vergleich zur Nichtrezidivgruppe und anderen angrenzenden Gewebeveränderungen. In der Literatur finden sich keine vergleichbaren Daten. Aussagen bezüglich einer prognostische womöglichen "low risk"-Gruppe können nur durch weitere Untersuchungen mit größerer Fallzahl getroffen werden.

6 Schlussfolgerungen

6.1 Erfassung von Vor- und Frühstadien des Vulvakarzinoms

Im Kontrast zur Altersverteilung des Vulvakarzinoms mit einem Peak um 64 Jahre zeigen die Vorstufen ein breit gestreutes Vorkommen auch deutlich unter dem 30. und über dem 70. Lebensjahr [63, 102, 152, 158, 182]. Das Karzinom tritt signifikant in höherem Alter auf als die Dysplasie, während knapp $\frac{1}{4}$ aller in der Arbeit untersuchten Frauen 50 Jahre und jünger waren. In dieser Altersgruppe besteht theoretisch die Möglichkeit der Krebsfrüherkennung, zumal diese Frauen gewöhnlich noch regelmässig den Frauenarzt konsultieren. Wenn auch die vorliegende Arbeit am rekrutierten Patientinnenpool einer Universitätsfrauenklinik keine Tendaussage treffen konnte, so müsste die epidemiologisch erkennbare Verschiebung der VIN und Vulvakarzinome ins zunehmend jüngere Alter sowie die insgesamt häufiger diagnostizierte VIN eine Karzinomfrüherkennung möglich machen. Die Problematik der bevorzugt karzinomtragenden älteren Frau liegt in der fehlenden Teilnahme an den Krebsfrüherkennungsuntersuchungen und an der Therapieverschleppung trotz bestehender Beschwerden [44, 152], keine leicht zu lösende Aufgabe!

Die Mehrzahl der Frauen mit vulvären Dys- und Neoplasien haben Symptome. Beschwerden wie chronischer Juckreiz, Schwellung/Knoten oder Brennen der Vulva sind hinweisend. Die Frühdiagnostik wird dadurch erschwert, dass die Symptomatik weder charakteristisch noch ein Erstsinal ist und das insbesondere die intraepithelialen Neoplasien auch asymptomatisch auftreten [8, 63, 80, 119, 175]. Andererseits zeigen die Läsionen (bevorzugt kleine Labien rechts) eine unspezifisch weite Palette an farbllichem Aussehen und palpatorischen Veränderungen, hinter denen sich auch nichtdysplastische Erkrankungen verbergen können. Fehleinschätzungen als benigne Veränderungen waren in bis zu $\frac{1}{3}$ nicht selten. Fazit ist, dass zum einen die Vulva der Inspektion sowie histologischen Sicherung einfach zugänglich ist und das andererseits makroskopische Befunde in Beachtung von Symptomatik und Anamnese einzuordnen und abzuklären sind. Dem multifokalen und multizentrischen Auftreten sollte in der Diagnostik besonders der "jüngeren" Frauen Rechnung getragen werden. Bei ambulant unkompliziert durchführbarer Stanzbiopsie sollte eine ärztliche Verzögerung der Diagnose und damit einer adäquaten Therapie der Vergangenheit angehören [44, 80, 152].

Die niedrige Onkopotenz mit langsamer Progression der VIN zum Karzinom über ca. 16 Jahre unterstützt die Entdeckung und Eliminierung im Stadium der Präkanzerose, was die

stabile Karzinominzidenz erklären könnte [68]. Angesichts o.g. Aspekte ist bei der Seltenheit des Vulvakarzinoms ein allgemeines Screening wenig sinnvoll, eine Optimierung der Krebsfrüherkennung ist durch qualitätssichernde Maßnahmen, insbesondere bei der Materialgewinnung und durch höhere Teilnehmerquoten zu erreichen.

6.2 Morphegruppen als Ausdruck einer unterschiedlichen Pathogenese mit klinischer Relevanz?

Zahlreiche Studien und die Ergebnisse in der hier vorliegenden Arbeit bekräftigen anhand histomorphologischer, viraler sowie immunhistochemischer Kriterien und klinischer Einflußfaktoren die Möglichkeit zwei verschiedener Entstehungswege der VIN und des Vulvakarzinoms, wenn auch diese Entitäten nicht immer klar voneinander abgegrenzt werden können [3, 31-2, 101, 180].

Zum einen lässt sich eine jüngere, zumeist rauchende Frauengruppe mit "warty-basaloidem", multifokal- multizentrischem Vulvakarzinom definieren mit hoher Assoziation zur Virusinfektion [181]. Davon abgrenzbar ist ein unifokal wachsendes Karzinom vom differenziert verhornenden Typ mit erhöhter p53-Mutation und zumeist negativem Virusnachweis, das bevorzugt ältere, nicht rauchende Frauen betrifft [124]. Auch das karzinomangrenzende Gewebe als pathogenetischer (anamnestischer) "Boden" weist Unterschiede auf [27, 68, 101, 132, 180]. So zeigt die warty-basaloide Form des Plattenepithelkarzinoms angrenzend häufiger (schlecht differenzierte) VIN, die klassisch verhornende Form dagegen seltener VIN und dafür häufiger die NNVD wie Hyperplasie und Lichen sclerosus. Die tumorangrenzenden Epithelveränderungen aber auch die anamnestischen NNVD und chronischen Langzeitirritationen bedürfen mehr Beachtung hinsichtlich ihrer pathogenetischen Rolle und ihres prognostischen Potentials [56, 84-5, 90, 119, 151, 154, 177-8, 199]. Unter diesem Aspekt wären Verlaufsstudien mit großen Fallzahlen wünschenswert.

Ähnlich dem Risikoprofil der Karzinomsubgruppen lässt sich bei den VIN eine jüngere und ältere Risikogruppe abgrenzen, was ihre Rolle als Krebsvorstufe in der Karzinomentstehung unterstreicht [32, 54, 72, 101, 138, 180, 198]. Eine Frauengruppe weist ein dem warty-basaloiden Karzinom ähnliches Risikoprofil auf, das mit jüngerem Alter, multifokal-multizentrischem, bevorzugt hochgradig dysplastischem Wachstum, HPV-Infektion, Rauchen und seltenem Nachweis von p53-Mutationen und NNVD assoziiert und als Präkanzerose des "warty-basaloiden" Vulvakarzinom anzunehmen ist. Die "ältere" VIN zeigte Kriterien

vergleichbar eher dem verhornenden invasivem Karzinom und wird als mögliche Präkanzerose des Vulvakarzinoms der älteren Frau diskutiert [198].

Zur Einschätzung der Prognose (Rezidivneigung/ Metastasierung) der Frauen in den o.g. Entitäten und nach histologischen Subtypen, der HPV-Infektion oder der p53-Mutation bleiben die Daten insgesamt recht widersprüchlich.

Die gesicherten Risikofaktoren in der Pathogenese des Vulvakarzinoms und seiner Vorstufen sind Rauchen, Immunkompetenzstörung und die anogenitalen Papillomaviren mit hohem onkogenem Potenzial, zumeist die HPV-Typen 16 und 18 [4, 15, 28, 30, 37, 45, 75, 106, 143]. Für den überwiegenden Anteil der VIN und einen Teil der Karzinome ist das HPV als zentraler ätiologischer Faktor in der Pathogenese anzunehmen. Die E6 und E7 Onkogene der HR HPV wirken karzinogen bevorzugt in der Entwicklung der "jüngeren" VIN und Vulvakarzinome. Insbesondere Nikotinabusus und HPV scheinen synergistisch wirksam in deutlich jüngerem Alter zur Vulvaerkrankung zu führen [21, 35, 62]. Eine Folge der HPV-Infektion ist das multifokale und multizentrische Tumorwachstum mit einer Absetzung häufig im Gesunden [13, 80, 83, 127, 185]. Diese Aspekte sind in der Anamnese und Risikoselektion zu beachten. Hier besteht im Rahmen einer bei der Zervixneoplasie in Testung befindlichen therapeutischen HPV-Impfung die zukünftige Hoffnung, letztlich auch die Inzidenz der hoch virusdurchseuchten VIN sowie die Karzinominzidenz positiv zu beeinflussen.

Mit fortschreitendem Alter gewinnen der Einfluß der Mutation im p53- Tumorsuppressorgen und die Risikofaktoren chronische Immunsuppression (z.B. Diabetes) sowie Irritation als Noxen des Vulvaepithels (z.B. NNVD, Entzündung) zunehmend an Bedeutung in der "klonalen" Genese der "älteren" Vulvakarzinome und VIN. Deren seltenere Durchseuchung mit HPV zeigt diese Infektion im Alter von pathogenetisch eher untergeordneter Bedeutung [27, 31, 107, 178, 198].

6.3 Die p53-Mutation: (k)eine Rolle in der Genese des Vulvakarzinoms?

Der Nachweis der p53-Überexpression im Vulvakarzinom und auch in der VIN als Krebsvorstufe weisen den Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens als einen wichtigen Schritt in der Vulvakarzinogenese aus [65, 85, 106, 108, 119, 136, 157]. Beim Plattenepithelkarzinom ist es ein recht häufiges Ereignis. Die Zunahme der p53-Alteration vom (karzinomangrenzend) normalen Epithel und NNVD über die intraepitheliale Neoplasie zum insbesondere invasiven (metastasierenden) Karzinom der Vulva hin könnte Ausdruck für den Progreß sein [22, 39, 51, 53, 177, 189]. Das die Genmutation einer histologisch

nachweisbaren Epitheldysplasie vorausgeht signalisiert ihre pathogenetische Rolle, bevorzugt bei Fehlen der HPV-Infektion und im fortgeschrittenen Lebensalter. Die Koexpression von p53 mit HR HPV geht bei VIN und Vulvakarzinom mit Prognoseverschlechterung einher [69, 122, 156, 179]. Während hier die Summation bzw. Folge dieser onkogenen Faktoren angenommen werden kann bleibt die Genese der p53- und virusnegativen vulvären Neoplasien unklar.

Die p53-Expressionsverteilung in den hier untersuchten VIN und Vulvakarzinomen scheint die Hypothese von zwei Pathogenesewegen zu unterstützen. Es gibt wenige Aussagen zur Bedeutung der p53-Überexpression in der Entwicklung von VIN und Karzinom und sollte an größeren Datenmengen untersucht werden.

Das Vulvakarzinom und seine Präneoplasie sind seltene Genitallerkrankungen, was eine breite Erforschung mit größeren Studien und somit tiefere Einblicke in Ätiopathogenese und Prognose erschwert. Letztliches Ziel der Betrachtungen zu Pathogenese und Risikofaktoren ist die frühe Diagnostik und adäquate Therapie der Vulvakarzinome und seiner Vorstufen. Aus Sicht des Pathologen sind neben bekannten Prognosefaktoren die Bedeutung der histologischen Subtypen, Uni- /Multifokalität, Rundzellinfiltration sowie des Wachstumsmusters an der Invasionsfront und des tumorbegrenzenden Epithels für die Einschätzung von Rezidiv oder Metastasierung weiter zu untersuchen. Angesichts einer hohen Morbidität und Gefahr der Übertherapie durch die radikale Lymphonodektomie wäre die Einschätzung des Metastasierungsrisikos anhand histomorphologischer Kriterien zu überprüfen. Dies unterstreicht erneut die Notwendigkeit weiterer Studien zum Thema. Mögen die Daten der vorliegenden Arbeit einen kleinen Beitrag zur Aufklärung leisten und Anregung sein für weitere Untersuchungen.

7 Zusammenfassung

Das Vulvakarzinom sowie die zugehörige VIN sind seltene Genitalveränderungen und in ihrer Pathogenese wenig erforscht. Die epidemiologisch beobachtete Inzidenzzunahme der VIN sowie Zunahme jüngerer Frauen mit VIN und Vulvakarzinomen waren Anlass, diese im 12 Jahreszeitraum in der Universitätsfrauenklinik Halle operierten Vulvaläsionen nach Histomorphologie und Klinik retrospektiv zu untersuchen und entsprechend neuer Nomenklatur zu klassifizieren. Die Analyse der Virusinfektion erfolgte in Kenntnis der kausal onkogenen Wirkung der HR-HPV mittels Histologie und teilweise IsH. Von Interesse war, inwieweit genetische Zellschädigungen (p53-Genmutation) oder Proliferationssteigerungen im Epithel der VIN und des Vulvakarzinoms eine Rolle spielen. Ein Kollektiv von 111 Plattenepithelkarzinomen der Vulva und 23 VIN stellte das Krankengut dar.

Das Vulvakarzinom betraf die ältere Frau im mittleren Alter von 64 Jahren und die VIN trat signifikant früher mit 48 Jahren auf. In der Entwicklung von der VIN zum Vulvakarzinom ist von einem biphasischen Verlauf mit 16 Jahren Progressionszeit auszugehen. $\frac{1}{3}$ aller VIN traten vor dem 30. Lebensjahr auf und bildeten in der Altersverteilung einen ersten frühen von drei Häufigkeitsgipfeln, lediglich 14% der Karzinompatientinnen waren unter 50. Insbesondere der jüngere Frauenanteil mit häufig multizentrischen und multifokalen vulvären (Prä-)Neoplasien spiegelt die beobachtete Zunahme bzw. Verschiebung HPV-assoziiertes Genitalerkrankungen wider. Der Vergleich in zwei Zeitkohorten lies weder bei den VIN noch Vulvakarzinomen eine Zunahme oder Verschiebung ins jüngere Erkrankungsalter erkennen.

Der Risikofaktor Rauchen war mit jüngeren Erkrankungsalter assoziiert. 91% der Frauen mit VIN und über die Hälfte mit Vulvakarzinom hatte mindestens eine immunsupprimierende Bedingung in der Anamnese. Lokale Langzeitirritationen des Vulvaepithels fanden sich prädisponierend bei 9% der Frauen mit VIN und 28% mit Karzinom. NNVD in der Anamnese waren mehrheitlich weder histologisch gesichert noch therapiert worden.

83-96% aller Frauen hatten Vulvabeschwerden, neben unspezifischem Pruritus, Brennen und Schmerz am häufigsten die palpable Schwellung. Die VIN waren signifikant häufiger asymptomatisch als die Karzinome. Rund die Hälfte aller Vulvaveränderungen wurde innerhalb eines halben Jahres diagnostiziert, jedoch nicht selten verzögerte eine späte Diagnostik die zeitnahe Therapie.

91% der VIN und 65% der Karzinome waren auf den Labien lokalisiert und wiesen mehrheitlich makroskopisch suspektes Hautverfärbungen bzw. Niveauunterschiede auf.

Für die Dysplasie und das Plattenepithelkarzinom an der Vulva können nach klinischen und histomorphologischen Kriterien zwei Gruppen unterschieden werden, die jeweils verschiedene ätiopathogenetische Entitäten und Risikoprofile diskutieren lassen. Während eine rein histomorphologische Einteilung der VIN nicht gelang, existierten beim Vulvakarzinom drei Subtypen. Eine signifikant jüngere Frauengruppe vom "wartylbasaloiden" Subtyp mit multifokalem Karzinomwachstum, einer Assoziation zum Rauchen sowie HPV, meist tumorangrenzender VIN und tendenziell geringer p53-Überexpression mit relativ späten aber häufigen Rezidiven war abgrenzbar von einer Gruppe Frauen höheren Alters mit "verruköser" Morphologie. Die VIN differenzierte sich anhand kliniko-histologischer Kriterien in ein "jüngeres" (mittleres Alter 40 Jahre) und ein um 16 Jahre "älteres" Kollektiv, vergleichbar den Vulvakarzinomgruppen mit ähnlichem Risikoprofil. Die höhere Multizentrität der VIN, ihr signifikant häufiger multifokales Wachstum mit Gefahr der Absetzung nicht im Gesunden sind Ausdruck der im Vergleich zum Karzinom signifikant höheren Viruslast der Präkanzerose.

Die häufigste operative Therapie war die wide excision der VIN und die radikale Vulvektomie mit zumeist bilateraler Lymphonodektomie beim Karzinom. $\frac{2}{3}$ aller exstirpierten inguinalen LK waren frei von Metastasen. Neben den eingeschränkt radikalen Operationsmethoden zielt die Sentinel-Methode auf Reduktion der operationsbedingten Morbidität und Mortalität der oft älteren Frauen.

Der zentrale Risikofaktor Virusinfektion betraf 74% der VIN und 23% der invasiven Karzinome. Die IsH korrelierte gut mit den histologischen Viruskriterien und wies in 67-88% der untersuchten Fälle die HR HPV-Typen 16 und 18 auf. Weder die VIN noch die Karzinome zeigten eine Altersdiskriminierung mit und ohne Virusinfektion. Die HPV-Infektion und p53-Überexpression zeigten tendenziell gegensinniges Vorkommen. Der Nachweis einer Mutation im p53-Tumorsuppressorgen in $\frac{1}{3}$ der untersuchten VIN und 58% der vulvären Plattenepithelkarzinome signalisiert einen frühen Ausbruch aus der Zellzykluskontrolle und scheint mit Entartungsfortschritt des Vulvaepithels verbunden zu sein, zumal auch peritumoral nicht-/dysplastisches Epithel vereinzelt Überexpressionen hatte. VIN und Vulvakarzinom unterschieden sich signifikant im tumorangrenzenden Epithel. Mit Übergang der intraepithelialen zur invasiven Neoplasie kommt es zur Abnahme des normalen und dsyplastischen Epithels zugunsten nichtdysplastischer Läsionen. 30% der VIN waren von ausschließlich unauffälligem Plattenepithel umgeben, die Vulvakarzinome in 6% der Fälle.

In keinem Fall wurde in der durchschnittlichen Nachbeobachtung von 70 Monaten eine Progression von operierter VIN zum Karzinom beobachtet.

8 Literaturverzeichnis

1. Abrao FS, Baracat EC, Marques AF, Abrao MS, Torloni H, Coelho FR, Alves AC, de Lima GR: Carcinoma of the vulva. Clinicopathologic factors involved in inguinal and pelvic lymph node metastasis. *J Reprod Med* 35 (1990) 1113-1116
2. Al-Ghamdi A, Freedman D, Miller D, Poh C, Rosin M, Zhang L, Gilks CB: Vulvar Squamous Cell Carcinoma in Young Women: A Clinicopathologic Study of 21 Cases. *Gynecol Oncol* 84 (2002) 94-101
3. Andersen WA, Franquemont DW, Williams J, Taylor PT, Crum CP: Vulvar squamous cell carcinoma and papillomaviruses: two separate entities? *Am J Obstet Gynecol* 165 (1991) 329-336
4. Ansink AC, Heintz AP: Epidemiology and etiology of squamous cell carcinoma of the vulva. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 48 (1993) 111-115
5. Ansink AC, Kagie MJ: Benign and malignant pathology of the vulva. *Curr Opin Obstet Gynecol* 5 (1993) 474-479
6. Ansink AC, Krul MR, De Weger RA, Kleyne JA, Pijpers H, Van Tinteren H, De Kraker EW, Helmerhorst TJ, Heintz AP: Human papillomavirus, lichen sclerosus, and squamous cell carcinoma of the vulva: detection and prognostic significance. *Gynecol Oncol* 52 (1994) 180-184
7. Baggish MS, Sze EH, Adelson MD, Cohn G, Oates RP: Quantitative evaluation of the skin and accessory appendages in vulvar carcinoma in situ. *Obstet Gynecol* 74 (1989) 169-174
8. Barbero M, Micheletti L, Preti M, Cavanna L, Boselli F, Garuti G, Valentino MC, Nicolaci P, Ghiringhello B, Borgno G: Vulvar intraepithelial neoplasia. A clinicopathologic study of 60 cases. *J Reprod Med* 35 (1990) 1023-1028
9. Barten M, Ostwald C, Müller P, Löning T, Milde-Langosch K, Wukasch Y: p53 Alterationen und HPV Status in oralen Plattenepithelkarzinomen. *Verh Dtsch Ges Path* 78 (1994) 255-259
10. Basta A: Diagnostic and therapeutic procedures in the vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) and early invasive cancer of the vulva. *Eur J Gynaecol Oncol* 10 (1989) 55-59
11. Bastert G: Leitlinie. Vulvakarzinom- korrigierte Fassung. *Frauenarzt* 41 (2000) 1257-1259
12. Batsakis JG, El-Naggar AK: p53. Fifteen years after discovery. *Advances in Anatomic Pathol* 2 (1995) 71-88
13. Beckman AM, Acker R, Christiansen AE, Sherman KJ: Human papillomavirus infection in women with multicentric squamous cell neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 165 (1991) 1431-1437
14. Benedet JL, Wilson PS, Maticic J: Epidermal thickness and skin appendage involvement in vulvar intraepithelial neoplasia. *J Reprod Med* 36 (1991) 608-612

15. Bergeron C, Naghashfar Z, Canaan C, Shah K, Fu Y, Ferenczy A: Human papillomavirus type 16 in intraepithelial neoplasia (bowenoid papulosis) and coexistent invasive carcinoma of the vulva. *Int J Gynecol Pathol* 6 (1987) 1-11
16. Bloss JD, Liao SY, Wilczynski SP, Macri C, Walker J, Peake M, Berman ML: Clinical and histologic features of vulvar carcinomas analyzed for human papillomavirus status: evidence that squamous cell carcinoma of the vulva has more than one etiology. *Hum Pathol* 22 (1991) 711-718
17. Bokhman JV, Maximov SJ, Ebert AD: Zur Effektivität der radikalen Therapie des Vulvakarzinoms. Eine Analyse von 148 Fällen. *Zentralbl Gynäkol* 119 (1997) 166-172
18. Boyce J, Fruchter RG, Kasamgilides E: Prognostic factors in carcinoma of the vulva. *Gynecol Oncol* 20 (1985) 364-377
19. Brandenberger AW, Hanggi W, Gasser A, Dreher E: Das Vulvakarzinom. An der Universitäts-Frauenklinik Bern von 1978 bis 1987 behandelte Fälle. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 31 (1991) 77-88
20. Brandenberger AW, Rudlinger R, Hanggi W, Bersinger NA, Dreher E: Detection of human papillomavirus in vulvar carcinoma. A study by in situ hybridisation. *Arch Gynecol Obstet* 252 (1992) 31-35
21. Brinton LA, Nasca PC, Mallin K, Baptiste MS, Wilbanks GD, Richart R: Case-control study of cancer of vulva. *Obstet Gynecol* 75 (1990) 859-866
22. Brustmann H, Naude S: Expression of topoisomerase IIalpha, Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, p53, and argyrophilic nucleolar organizer regions in vulvar squamous lesions. *Gynecol Oncol* 86 (2002) 192-199
23. Buckley CH, Butler EB, Fox H: Vulvar intraepithelial neoplasia and microinvasive carcinoma of the vulva. *J Clin Pathol* 37 (1984) 1207
24. Burkart C: Das Tumorsuppressorprotein p53. *Deutsches Ärzteblatt* 91 (1994) 898-904
25. Buscema J, Stern J, Woodruff JD: The significance of the histologic alterations adjacent to invasive vulvar carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 137 (1980) 902-909
26. Carli P, Bracco G, Taddei G, Sonni L, De Marco A, Maestrini G, Cattaneo A: Vulvar lichen sclerosus. Immunohistologic evaluation before and after therapy. *J Reprod Med* 39 (1994) 110-114
27. Carlson JA, Ambros R, Nalfetano J, Ross J, Grabowski R, Lamb P, Figge H, Mihm MC, Jr: Vulvar lichen sclerosus and squamous cell carcinoma: a cohort, case control, and investigational study with historical perspective; implications for chronic inflammation and sclerosis in the development of neoplasia. *Hum Pathol* 29 (1998) 932-948
28. Carter J, Carlson J, Fowler J, Hartenbach E, Adcock L, Carson L, Twiggs LB: Invasive vulvar tumors in young women- a disease of the immunosuppressed? *Gynecol Oncol* 51 (1993) 307-310
29. Chang KL: p53 Invades Pathology. *Advances in Anatomic Pathol* 1 (1994) 38-43
30. Conley LJ, Ellerbrock TV, Bush TJ, Chiasson MA, Sawo D, Wright TC: HIV-1 infection

- and risk of vulvovaginal and perianal condylomata acuminata and intraepithelial neoplasia: a prospective cohort study. *Lancet* 359 (2002) 9108-9113
31. Crum CP: Carcinoma of the vulva: epidemiology and pathogenesis. *Obstet Gynecol* 79 (1992) 448-454
 32. Crum CP, Liskow A, Petras P, Keng WC, Frick HC: Vulvar intraepithelial neoplasia (Severe atypia and carcinoma in situ). A clinicopathologic analysis of 41 cases. *Cancer* 54 (1984) 1429-1434
 33. Crum CP, McLachlin CM, Tate JE, Mutter GL: Pathobiology of vulvar squamous neoplasia. *Curr Opin Obstet Gynecol* 9 (1997) 63-69
 34. Dadak C, Kainz C: Operative Therapie präaligner und maligner Erkrankungen der Vulva. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 15-18
 35. Daling JR, Sherman KJ, Hislop TG, Maden C, Mandelson MT, Beckmann AM, Weiss NS: Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. *Am J Epidemiol* 135 (1992) 180-189
 36. De Hullu JA, Hollema H, Lolkema S, Boezen M, Boonstra H, Bürger MP, Aalders JG, Mourits MJ, Van Der Zee AG: Vulvar carcinoma. The price of less radical surgery. *Cancer* 95 (2002) 2331-2338
 37. Della Torre G, Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Pasquini G, De Palo G, Pierotti MA, Rilke F, Della Porta G: HPV DNA in intraepithelial neoplasia and carcinoma of the vulva and penis. *Diagn Mol Pathol* 1 (1992) 25-30
 38. DiBonito L, Falconieri G, Bonifacio Gori D: Multicentric papillomavirus infection of the female genital tract. A study of morphologic pattern, possible risk factors and viral prevalence. *Pathol Res Pract* 189 (1993) 1023-1029
 39. Emanuels AG, Koudstaal J, Burger MP, Hollema H: In squamous cell carcinoma of the vulva, overexpression of p53 is a late event and neither p53 nor mdm2 expression is a useful marker to predict lymph node metastases. *Br J Cancer* 80 (1999) 38-43
 40. Farnsworth A, Hacker NF: Pathology of the vulva. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2 (1990) 448-455
 41. Feige A, Rempfen A: *Frauenheilkunde*. 2.Aufl. Urban & Fischer, München, Jena, 2001
 42. Field JK, Malliri A, Butt SA, Gosney JR, Phillips D, Spandidos DA, Jones AS: p53 expression in end stage squamous cell carcinomas of the head and neck prior to chemotherapy treatment: Expression correlates with poor clinical outcome. *Int J Oncol* 3 (1993) 431-435
 43. Fimiani M, Mazzatenta C, Biagioli M, Andreassi L: Vulvar squamous papillomatosis and human papillomavirus infection. A polymerase chain reaction study. *Arch Dermatol Res* 285 (1993) 250-254
 44. Fiorica JV, Cavanagh D, Marsden DE, Shepherd JH, Ruffolo EH, Songster CL: Carcinoma in situ of the vulva: 24 years' experience in southwest Florida. *South Med J* 81 (1988) 589-593

45. Friedrich R, Schaefer P, Krauer F: Intraepithelial neoplasia of the vulva and smoking. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 92-94
46. Ganjei P, Giraldo KA, Lampe B, Nadji M: Vulvar Paget's disease. Is immunocytochemistry helpful in assessing the surgical margins. *J Reprod Med* 35 (1990) 1002-1004
47. Garsia S, Origoni M, Sideri M, Arnoletti E, Maggi R: Preneoplastic lesions of the vulva. *Eur J Gynaecol Oncol* 9 (1988) 342-345
48. Garuti G, Boselli F, Genazzani AR, Silvestri S, Ratti G: Detection and typing of human papillomavirus in histologic specimens by in situ hybridization with biotinylated DNA probes. *Am J Clin Pathol* 92 (1989) 604-612
49. Gomez Rueda N, Garcia A, Vighi S, Belardi MG, Cardinal L, di Paola G: Epithelial alterations adjacent to invasive squamous carcinoma of the vulva. *J Reprod Med* 39 (1994) 526-530
50. Gomez F, Corcuera MT, Munoz E, Roldan M, Alonso MJ, Abad M, Paz JI, Lopez Bravo A: Diagnosis of genital infection caused by human papillomavirus using in situ hybridisation: The importance of the size of the biopsy specimen. *J Clin Pathol* 48 (1995) 57-58
51. Gordinier ME, Steinhoff MM, Hogan JW, Peipert JF, Gajewski WH, Falkenberry SS, Granai CO: S-Phase fraction, p53, and HER-2/neu status as predictors of nodal metastasis in early vulvar cancer. *Gynecol Oncol* 67 (1997) 200-202
52. Gupta J, Pilotti S, Shah KV, De Palo G, Rilke F: Human papillomavirus-associated early vulvar neoplasia investigated by in situ hybridization. *Am J Surg Pathol* 11 (1987) 430-434.
53. Gusterson BA, Anbazhagan R, Warren W, Midgely C, Lane DP, O'Hare M, Stamps A, Carter R, Jayatilake H: Expression of p53 in premalignant and malignant squamous epithelium. *Oncogene* 6 (1991) 1785-1789
54. Haefner HK, Tate JE, McLachlin CM, Crum CP: Vulvar intraepithelial neoplasia: Age, morphological phenotype, papillomavirus DNA, and coexisting invasive carcinoma. *Hum Pathol* 26 (1995) 147-154
55. Hantschmann P, Schnürch HG: Sentinel-Lymphonodektomie beim Vulvakarzinom: Aktuelle Datenlage und Vorstellung einer multizentrischen AGO-Studie. *Der Gynäkologe* 10 (2004) 936-942
56. Hart WR, Norris HF, Helwig EB: Relation of lichen sclerosus et atrophicus of the vulva to development of carcinoma. *Obstet Gynecol* 45 (1975) 369-377
57. Hartmann L, Laufer B, Bender HG: Bedeutung der Viruserkrankung der Vulva. *Der Gynäkologe* 26 (1993) 257-266
58. Hawkins DS, Demers GW, Galloway DA: Inactivation of p53 enhances sensitivity to multiple chemotherapeutic agents. *Cancer Res* 56 (1996) 892-898
59. Heaps JM, Fu YS, Montz FJ, Hacker NF, Berek JS: Surgical-pathologic variables

- predictive of local recurrence in squamous cell carcinoma of the vulva. *Gynecol Oncol* 38 (1990) 309-314
60. Heim K, Pinzger G, Wartusch B, Müller-Holzner E, Holböck E, Zeimet A, Baumgartner P, Höpfl R, Weiss D, Ruth NR, Dapunt O: Die HPV-Infektion im Bereich der Vulva. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 21-25
 61. Herod JJ, Shafi MI, Rollanson TP, Jordan JA, Luesley DM: Vulvar intraepithelial neoplasia: long term follow up of treated and untreated women. *Br J Obstet Gynaecol* 103 (1996) 446-452
 62. Hildesheim A, Han CL, Brinton LA, Kurman RJ, Schiller JT: Human papillomavirus type 16 and risk of preinvasive and invasive vulvar cancer: results from a seroepidemiological case-control study. *Obstet Gynecol* 90 (1997) 748-754
 63. Hillemanns HG, Schillinger H, Schmidt-Matthiesen H: Präneoplasien und Neoplasien der Vulva. In: Wulf KH, Schmidt-Matthiesen H (Hrsg): *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe Bd 11; Spezielle Gynäkologische Onkologie I*. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1991, S. 49-88
 64. Hillemanns P, Dannecker C: Photodynamic therapy of vulvar intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid. *J Cancer* 85 (2000) 649-653
 65. Hoffmann G, Casper F, Weikel W, Kummerle T, Pollow B, Schaffrath M, Hofmann M, Pollow K: Untersuchungen zu p53, UPA, PAI-1 und Ki-67 beim Vulvakarzinom. *Zentralbl Gynäkol* 121 (1999) 473-478
 66. Homesley HD, Bundy BN, Sedlis A, Yordan E, Berek JS, Jahshan A, Mortel R: Assessment of current International Federation of Gynecology and Obstetrics staging of vulvar carcinoma relative to prognostic factors for survival (a Gynecologic Oncology Group study). *Am J Obstet Gynecol* 164 (1991) 997-1003
 67. Homesley HD, Bundy BN, Sedlis A, Yordan E, Berek JS, Jahshan A, Mortel R: Prognostic factors for groin node metastasis in squamous cell carcinoma of the vulva (a Gynecologic Oncology Group study). *Gynecol Oncol* 49 (1993) 279-283
 68. Hording U, Junge J, Daugaard S, Lundvall F, Poulsen H, Bock JE: Vulvar squamous cell carcinoma and papillomaviruses: indications for two different etiologies. *Gynecol Oncol* 52 (1994) 241-246
 69. Hording U, Kringsholm B, Andreasson B, Visfeldt J, Daugaard S, Bock JE: Human papillomavirus in vulvar squamous cell carcinoma and in normal vulvar tissues: A search for a possible impact of HPV on Vulvar cancer Prognosis. *Int J Cancer* 55 (1993) 394-396
 70. Hsu M, Raine L, Fanger H: The use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29 (1981) 577-580
 71. Husseinzadeh N, DeEulis T, Newman NJ, Wesseler TA: HPV changes and their significance in patients with invasive squamous cell carcinoma of the vulva: a

- clinicopathologic study. *Gynecol Oncol* 43 (1991) 237-241
72. Husseinzadeh N, Newman NJ, Wesseler TA: Vulvar intraepithelial neoplasia: a clinicopathological study of carcinoma in situ of the vulva. *Gynecol Oncol* 33 (1989) 157-163
 73. Husseinzadeh N, Wesseler TA, Schneider D, Schellhas H, Nahhas W: Prognostic factors and the significance of cytologic grading in invasive squamous cell carcinoma of the vulva: a clinicopathologic study. *Gynecol Oncol* 36 (1990) 192-199
 74. Husseinzadeh N, Recinto C: Frequency of invasive cancer in surgically excised vulvar lesions with intraepithelial neoplasia (VIN 3). *Gynecol Oncol* 73 (1999) 119-120
 75. Ikenberg H, Schwörer D, Pfleiderer A: Nachweis von humaner Papilloma-Virus (HPV)-DNA in Vulvakarzinomen. *Geburtsh Frauenheilkd* 48 (1988) 776-780
 76. Iversen T, Tretli S: Intraepithelial and invasive squamous cell neoplasia of the vulva: trends in incidence, recurrence, and survival rate in Norway. *Obstet Gynecol* 91 (1998) 969-972
 77. Jimenez-Ayala: Terminology for vulvar cytology based on the Bethesda System. *Acta Cytol* 46 (2002) 645-650
 78. Jochmus I, Durst M, Reid R, Altmann A, Bijward KE, Gissmann L, Jenson AB: Major histocompatibility complex and human papillomavirus type 16 E7 expression in high-grade vulvar lesions. *Hum Pathol* 24 (1993) 519-524
 79. Jones RW, Baranyai J, Stables S: Trends in squamous cell carcinoma of the vulva: the influence of vulvar intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 90 (1997) 448-452
 80. Jones RW, Rowan DM: Vulvar intraepithelial neoplasia III: A clinical study of the outcome in 113 cases with relation to the later development on invasive vulvar carcinoma. *Obstet Gynecol* 84 (1994) 741-745
 81. Joura EA, Losch A, Haider-Angeler MG, Breitenecker G, Leodolter S: Trends in vulvar neoplasia. Increasing incidence of vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the vulva in young women. *J Reprod Med* 45 (2000) 613-615
 82. Joura EA, Zeisler H, Losch A, Sator NO, Nullauer-Ert S: Differentiating vulvar intraepithelial neoplasia from nonneoplastic epithelial disorders. The toluidine blue test. *J Reprod Med* 43 (1998) 671-674
 83. Junge J, Poulsen H, Horn T, Hording U, Lundval F: Prognosis of vulvar dysplasia and carcinoma in situ with special reference to histology and types of human papillomavirus (HPV). *APMIS* 105 (1997) 963-971
 84. Kagie MJ, Kenter GG, Zomerdijk-Nooijen Y, Hermans J, Schuurin E, Timmers PJ, Trimbos JB, Fleuren GJ: Human papillomavirus infection in squamous cell carcinoma of the vulva, in various synchronous epithelial changes and in normal vulvar skin. *Gynecol Oncol* 67 (1997) 178-183
 85. Kagie MJ, Kenter GG, Tollenaar RA, Hermans J, Trimbos JB, Fleuren GJ: p53 protein overexpression a frequent observation in squamous cell carcinoma of the vulva and in

- various synchronous vulvar epithelia, has no value as a prognostic parameter. *Int J Gynecol Pathol* 16 (1997) 124-130
86. Kagie MJ, Kenter GG, Tollenaar RA, Hermans J, Trimbos JB, Fleuren GJ: p53 protein overexpression is common and independent of human papillomavirus infection cell carcinoma of the vulva. *Cancer* 80 (1997) 1228-1233
 87. Kawamura T, Goseki N, Koike M, Takizawa T, Endo M: Acceleration of proliferative activity of esophageal squamous cell carcinoma with invasion beyond the mucosa. *Cancer* 77 (1996) 843-849
 88. Kelley III JL, Burke TW, Tornos C, Morris M, Gershenson DM, Silva EG, Wharton JT: Minimally invasive vulvar carcinoma: an indication for conservative surgical therapy. *Gynecol Oncol* 44 (1992) 240-244
 89. Kiene P, Milde-Langosch K, Runkel M, Schulz K, Löning T: A simple and rapid technique to process formalin-fixed, paraffin-embedded tissues for the detection of viruses by the polymerase chain reaction. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 420 (1992) 269-273
 90. Kim YT, Thomas NF, Kessis TD, Wilkinson EJ, Hedrick L, Cho KR: p53 Mutation and Clonality in Vulvar Carcinomas and Squamous Hyperplasias: Evidence Suggesting That Squamous Hyperplasias Do Not Serve as Direct Precursors of Human Papillomavirus-Negative Vulvar Carcinomas. *Hum Pathol* 27 (1996) 389-395
 91. Köchli OR, Sevin BU, Benz J, Petru E, Haller U: *Gynäkologische Onkologie. Manual für Klinik und Praxis.* Springer, Heidelberg, 1991
 92. Kohlberger P, Breitenecker G, Gitsch G, Sliutz G, Kölbl H, Tschachler E, Reinthaller A, Kainz Ch: Die p53- Überexpression als prognostischer Faktor beim Vulvakarzinom. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 36 (1996) 37-45
 93. Kohlberger P, Kainz C, Breitenecker G, Gitsch G, Sliutz G, Kölbl H, Tschachler E, Reinthaller A: Prognostic Value of Immunohistochemically Detected p53 Expression in Vulvar Carcinoma. *Cancer* 76 (1995) 1786-1789
 94. Kohlberger P, Kirnbauer R, Bancher D, Gitsch G, Reinthaller A, Leodolter S, Tschachler E, Kainz Ch, Breitenecker G: Absence of p53 protein overexpression in precancerous lesions of the vulva. *Cancer* 82 (1998) 323-327
 95. Kosary CL: FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological System: an analysis of 1973-87. *Seminars in Surgical Oncology* 10 (1994) 31-46
 96. Koss LG: Cytologic and histologic manifestations of human papillomavirus infection of the female genital tract and their clinical significance. *Cancer* 60 (1987) 1942-1950
 97. Koutsky LA, Wolner Hanssen P: Genital papillomavirus infections: current knowledge and future prospects. *Obstet Gynecol* 16 (1989) 541-564
 98. Kucera H: Chirurgisch-radiologisches Therapiekonzept beim Vulvakarzinom. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 19-20

99. Kuo TT, HU S, Lo SK, Chan HL: p53 expression and proliferative activity in Bowen`s disease with or without chronic arsenic exposure. *Hum Pathol* 28 (1997) 786-790
100. Küppers V, Stiller M, Somville T, Bender HG: Risk factors for recurrent VIN. Role of multifocality and grade of disease. *J Reprod Med* 42 (1997) 140-144
101. Kurman RJ, Toki T, Schiffman MH: Basaloid and warty carcinomas of the vulva. Distinctive types of squamous cell carcinoma frequently associated with human papillomaviruses. *Am J Surg Pathol* 17 (1993) 133-145
102. Kürzl R, Messerer D: Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the vulva. A multivariate analysis. *Gynecol Oncol* 32 (1989) 143-150
103. Kürzl R, Messerer D, Baltzer J, Lohe KJ, Zander J: Comparative morphometric study on the depth of invasion in vulvar carcinoma. *Gynecol Oncol* 29 (1988) 12-25
104. Landoni F, Maneo A, Zanetta G, Colombo A, Nava S, Placa F, Tancini G, Mangioni C: Concurrent preoperative chemotherapy with 5-fluorouracil and mitomycin C and radiotherapy (FUMIR) followed by limited surgery in locally advanced and recurrent vulvar carcinoma. *Gynecol Oncol* 61 (1996) 321-327
105. Lane DP: p53, guardian of the genome. *Cancer* 358 (1992) 15-16
106. Lee YY, Wilczynski SP, Chumakov A, Chih D, Koeffler HP: Carcinoma of the vulva: HPV and p53 mutations. *Oncogene* 9 (1994) 1655-1659
107. Leibowitch M, Neill S, Pelisse M, Moyal Baracco M: The epithelial changes associated with squamous cell carcinoma of the vulva: a review of the clinical, histological and viral findings in 78 women. *Br J Obstet Gynaecol* 97 (1990) 1135-1139
108. Lerma E, Matias-Guiu X, Lee SJ, Prat J: Squamous cell carcinoma of the vulva: study of ploidy, HPV p53, and pRb. *Int J Gynecol Pathol* 18 (1999) 191-197
109. Levi F, Randimbison L, La Vecchia C: Descriptive epidemiology of vulvar and vaginal cancers in Vaud, Switzerland, 1974- 1994. *Ann of Oncol* 9 (1998) 1229-1232
110. Lewandowski G, O'Toole RV, Delgado G, Boutselis JG: Carcinoma of the vulva. Significance of surgical margin involvement in assessing prognosis. *J Reprod Med* 34 (1989) 884-886
111. Lingard D, Free K, Wright RG, Battistutta D: Invasive squamous cell carcinoma of the vulva: behaviour and results in the light of changing management regimes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 32 (1992) 137-145
112. MacLean AB, Nicol LA, Hodgins MB: Immunohistochemical localization of estrogen receptors in the vulva and vagina. *J Reprod Med* 35 (1990) 1015-1016
113. Maggino T, Landoni F, Sartori E, Zola P, Gadducci A, Alessi C, Solda M, Coscio S, Spinetti G, Maneo A, Ferrero A, Konishi De, Toffoli G: Patterns of recurrence in patients with squamous cell carcinoma of the vulva. A multicenter CTF Study. *Cancer* 89 (2000) 116-122
114. Magrina JF, Gonzalez-Bosquet J, Weaver AL, Gaffey TA, Leslie KO, Webb MJ, Podratz KC: Squamous cell carcinoma of the vulva stage IA: long-term results. *Gynecol Oncol*

- 76 (2000) 24-27
115. Magrina JF, Gonzalez-Bosquet J, Weaver AL, Gaffey TA, Webb MJ, Podratz KC, Cornella JL: Primary squamous cell cancer of the vulva: radical versus modified radical vulvar surgery. *Gynecol Oncol* 71 (1998) 116-121
 116. Makar AP, Scheistroen M, van-den-Weyngaert D: Surgical management of stage I and II vulvar cancer: the role of the sentinel node biopsy. Review of literature. *J Gynecol Cancer* 11 (2001) 255-262
 117. Makino T, Tatebe S, Goto A, Mihara M, Ito H: Apoptosis and cellular proliferation in human epidermal squamous cell neoplasia. *J Cutan Pathol* 25 (1998) 136-142
 118. Manavi M, Berger A, Kucera E, Vavra N, Kucera H: Does T1, NO-1 vulvar cancer treated by vulvectomy but not lymphadenectomy need inguinofemoral radiation? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 38 (1997) 749-753
 119. McConnell DT, Miller ID, Parkin DE, Murray GI: p53 protein expression in a population-based series of primary vulval squamous cell carcinoma and immediate adjacent field change. *Gynecol Oncol* 67 (1997) 248-254
 120. McLachlin CM, Kozakewich H, Craighill M, O'Connell B, Crum CP: Histologic correlates of vulvar human papillomavirus infection in children and young adults. *Am J Surg Pathol* 18 (1994) 728-735
 121. Menton M, Neeser E, Oetting G, Marzusch K, Smyczek-Gargya G: Kolposkopie, Histologie, Zytologie und HPV-Befunde bei Patientinnen mit Kondylomen der Vulva. *Geburtsh Frauenheilkd* 52 (1992) 471-474
 122. Milde-Langosch K, Albrecht K, Joram S, Schlechte H, Giesing M, Löning T: Presence and persistence of HPV infection and p53 mutation in cancer of the cervix uteri and the vulva. *Int J Cancer* 63 (1995) 639-645
 123. Minucci D, Cinel A, De Matteis B, Libero Onnis G: Vulvar invasive and intraepithelial neoplasia. Comparison of some epidemiological and clinical data. *Clin Exp Obstet Gynecol* 14 (1992) 259-263
 124. Mitchell MF, Prasad CJ, Silva EG, Rutledge FN, McArthur MC, Crum CP: Second genital primary squamous neoplasms in vulvar carcinoma: viral and histopathologic correlates. *Obstet Gynecol* 81 (1993) 13-18
 125. Mittal KR, Lin O, Chan W, Goswami S, Demopoulos RI: Cervical squamous dysplasias and carcinomas with immunodetectable p53 frequently contain HPV. *Gynecol Oncol* 58 (1995) 389-394
 126. Modesitt SC, Groben PA, Walton LA, Fowler WC, Jr; Van-Le L: Expression of Ki-67 in vulvar carcinoma and vulvar intraepithelial neoplasia III: correlation with clinical prognostic factors. *Gynecol Oncol* 76 (2000) 51-55
 127. Modesitt SC, Waters AB, Walton LA, Fowler WC, Jr; Van-Le L: Vulvar Intraepithelial Neoplasia III: Occult Cancer and the Impact of Margin Status on Recurrence. *Obstet Gynecol* 92 (1998) 962-966

128. Monk BJ, Burger RA, Lin F, Parham G, Vasilev SA, Wiicynski SP: Prognostic significance of human papillomavirus DNA in vulvar carcinoma. *Obstet Gynecol* 85 (1995) 709-715
129. Mosny DS, Brito F, Bender HG: Immunohistochemical investigations of estrogen receptors in normal and neoplastic squamous epithelium of the vulva. *J Reprod Med* 35 (1990) 1005-1007
130. Naik R, Cross P, de Barros Lopes A, Robson P, Monaghan J: Lectins in the vulva I. Normal vulvar epithelium and epithelium adjacent to vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 17 (1998) 154-161
131. Nauth HF: Wertigkeit diagnostischer Methoden bei Erkrankungen der Vulva. In: Zander J, Baltzer J (Hrsg): *Erkrankungen der Vulva*. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1986, S. 37-53
132. Nuovo GJ, Delvenne P, MacConnell P, Chalas E, Neto C, Mann WJ: Correlation of histology and detection of human papillomavirus. DNA in vulvar cancers. *Gynecol Oncol* 43 (1991) 275-280
133. Nuovo GJ, Gallery F, MacConnell P: Detection of amplified HPV 6 and 11 DNA in vulvar lesions by hot start PCR in situ hybridization. *Mod Pathol* 5 (1992) 444-448
134. Nuovo GJ, O'Connell M, Blanco JS, Levine RU, Silverstein SJ: Correlation of histology and human papillomavirus DNA detection in condyloma acuminatum and condyloma-like vulvar lesions. *Am J Surg Pathol* 13 (1989) 700-706
135. Ogden GR, Chisholm DM, Morris AM, Stevenson JH: Overexpression of p53 in normal oral mucosa of oral cancer patients does not necessarily predict further malignant disease. *J Pathol* 182 (1997) 180-184
136. Ogden GR, Hall PA: Field Change, Clonality, and Early epithelial Cancer: Possible Lessons from p53. *J Pathol* 181 (1997) 127-129
137. Okagaki T: Impact of human papillomavirus research on the histopathologic concepts of genital neoplasms. *Curr Top Pathol* 85 (1992) 273-307
138. Park JS, Jones RW, McLean MR, Currie JL, Woodruff JD, Shah KV, Kurman RJ: Possible etiologic heterogeneity of vulvar intraepithelial neoplasia. A correlation of pathologic characteristics with human papillomavirus detection by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Cancer* 67 (1991) 1599-1607
139. Pecorelli S: FIGO Annual report on the result in gynaecological cancer. *J Epidemiol Biostat* 3 (1998) 1-168
140. Peru E, Lahousen M, Pickel H, Heydarfadai M, HaarJ, Kleewein P, Eibel K: Prognostische Faktoren beim invasiven Plattenepithelkarzinom der Vulva. *Gynäkolog Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 26-27
141. Pflaiderer A: Maligne Tumoren. In: Martius G (Hrsg): *LB der Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 510-559
142. Pilotti S, D'Amato L, Della Torre G: Papillomavirus, p53 alteration and primary

- carcinoma of the vulva. *Diagn Mol Pathol* 4 (1995) 239-248
143. Pilotti S, Gupta J, Stefanon B, De Palo G, Shah KV, Rilke F: Study of multiple human papillomavirus-related lesions of the lower female genital tract by in situ hybridization. *Hum Pathol* 20 (1989) 118-123
 144. Pilotti S, Rotola A, D'Amato L, Di Luca D, Shah KV, Cassai E, Rilke F: Vulvar carcinomas: search for sequences homologous to human papillomavirus and herpes simplex virus DNA. *Mod Pathol* 3 (1990) 442-448
 145. Prat J: Pathology of vulvar intraepithelial lesions and early invasive carcinoma. *Hum Pathol* 22 (1991) 877-883
 146. Preti M, Micheletti L, Barbero M, Ghiringhello B, Valentino MC, Nicolaci P, Canni M, Borgno G, Segnan N, Ronco G: Histologic parameters of vulvar invasive carcinoma and lymph node metastases. *J Reprod Med* 38 (1993) 28-32
 147. Preti M, Ronco G, Ghiringhello B, Micheletti L: Recurrent squamous cell carcinoma of the vulva: clinicopathologic determinants identifying low risk patients. *Cancer* 88 (2000) 1869-1876
 148. Preti M, Micheletti L, Condello V: Morbidity following radical vulvar surgery and inguinofemoral node dissection. *J Reprod Med* 47 (2002) 732-733
 149. Prives C, Hall AP: The p53 pathway. *J Pathol* 187 (1998) 112-126
 150. Reid R, Greenberg MD: Human papillomavirus-related diseases of the vulva. *Clin Obstet Gynecol* 34 (1991) 630-650
 151. Rodke G, Friedrich EG Jr, Wilkinson EJ: Malignant potential of mixed vulvar dystrophy (lichen sclerosus associated with squamous cell hyperplasia). *J Reprod Med* 33 (1988) 545-550
 152. Rosen C, Malmstrom H: Invasive cancer of the vulva. *Gynecol Oncol* 65 (1997) 213-217
 153. Rouzier R, Haddad B, Plantier F, MD, Dubois P, Pelisse M, Paniel BJ: Local Relapse in Patients Treated for Squamous Cell Vulvar Carcinoma: Incidence and Prognostic Value. *Obstet Gynecol* 100 (2002) 1159-1167
 154. Rouzier R, Morice P, Haie-Meder C, Lhomme C, Avril MF, Duvillard P, Castaigne D: Prognostic significance of epithelial disorders adjacent to invasive vulvar carcinomas. *Gynecol Oncol* 81 (2001) 414-419
 155. Rusk D, Sutton GP, Look KY, Roman A: Analysis of invasive squamous cell carcinoma of the vulva and vulvar intraepithelial neoplasia for the presence of human papillomavirus DNA. *Obstet Gynecol* 77 (1991) 918-922
 156. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM: The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63 (1990) 1129-1136
 157. Scheistroen M, Trope C, Pettersen EO, Nesland JM: p53 protein expression in squamous cell carcinoma of the vulva. *Cancer* 85 (1999) 1133-1138
 158. Schmidt W, Schmid H, Villena-Heinsen C, Kühn W, Jochum-Merger N, von Fournier D:

- Behandlungsergebnisse beim Vulvakarzinom von 1970 bis 1990. *Geburtsh Frauenheilkd* 52 (1992) 749-757
159. Schmidt W, Villena-Heinsen C, Schmid H, Engel K, Jochum-Merger N, Müller A: Rezidive beim Vulvakarzinom -Behandlung, Erfahrungen und Ergebnisse. *Geburtsh Frauenheilkd* 52 (1992) 462-466
160. Schneider A, Wagner D: Infektionen der Frau mit genitalem humanem Papillomvirus. *Deutsches Ärzteblatt* 90 (1993) 730-732
161. Schneider J, Rubio MP, Rodriguez-Escudero FJ, Seizinger BR, Castresana JS: Identification of p53 mutations by means of single strand conformation polymorphism analysis in gynaecological tumour: Comparison with the results of immunohistochemistry. *Eur J Cancer* 30 (1994) 504-508
162. Schnürch HG, Loaiciga K: Prämaligne Vulvaläsionen. *Gynäkologe* 26 (1993) 267-274
163. Schumacher A, Rohde E: Seltene Metastasierung von Vulvakarzinomen. *Zentralbl Gynäkol* 114 (1992) 379-381
164. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ: Histological Typing of Female Genital Tract Tumours. In: Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ, Scully RE (Hrsg): *Histological Typing of Female Genital Tract Tumours*. 2. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1994, S. 66-71
165. Scurry J, Beshay V, Cohen C, Allen D: Ki67 expression in lichen sclerosus of vulva in patients with and without associated squamous cell carcinoma. *Histopathol* 32 (1998) 399-404
166. Shatz P, Bergeron C, Wilkinson EJ, Arseneau J, Ferenczy A: Vulvar intraepithelial neoplasia and skin appendage involvement. *Obstet Gynecol* 74 (1989) 769-774
167. Sherman KJ, Daling JR, Chu J, McKnight B, Weiss NS: Multiple primary tumours in women with vulvar neoplasms: a case- control study. *Br J Cancer* 57 (1986) 423-427
168. Sherman KJ, Daling JR, McKnight B, Chu J: Hormonal factors in vulvar cancer. A case-control study. *J Reprod Med* 39 (1994) 857-861
169. Smyczek-Gargya B, Volz B, Geppert M, Dietl J: A multivariate analysis of clinical and morphological prognostic factors in squamous cell carcinoma of the vulva. *Gynecol Obstet Invest* 43 (1997) 261-267
170. Sohaib SA, Richards PS, Ind T, Jeyarajah AR, Shepherd JH, Jacobs U, Reznick RH: MR imaging of carcinoma of the vulva. *AJR* 178 (2002) 373-377
171. Spitzer M, Brandsma JL, Steinberg B, Chernys AE, Krumholz BA: Detection of conditions related to human papillomavirus. Comparison of cytology, colposcopy, histology and hybridization. *J Reprod Med* 35 (1990) 697-703
172. Spitzer M, Chernys AE, Hirschfield L, Spiegel G, Sedlis A, Zuna RE, Steinberg B, Brandsma JL, Krumholz BA: Assessment of criteria used in the histologic diagnosis of human papillomavirus-related disease of the female lower genital tract. *Gynecol Oncol* 38 (1990) 105-109

173. Sturgeon SR, Brinton LA, Devesa SS, Kurman RJ: In situ and invasive vulvar cancer incidence trends (1973 to 1987). *Am J Obstet Gynecol* 166 (1992) 1482-1485
174. Suo Z, Holm R, Nesland JM: Squamous cell carcinomas, an immunohistochemical and ultrastructural study. *Anticancer Res* 12 (1992) 2025-2032
175. Sykes P, Smith N, McCormick P, Frizelle FA: High-grade vulvar intraepithelial neoplasia (VIN3): a retrospective analysis of patient, characteristics, management, outcome and relationship to squamous cell carcinoma of the vulva 1989-1999. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 42 (2002) 69-74
176. Tamussino KF, Bader AA, Lax SF, Aigner RM, Winter R: Groin recurrence after micrometastasis in a sentinel lymph node in a patient with vulvar cancer. *Gynecol Oncol* 86 (2002) 99-101
177. Tan SH, Derrick E, McKee PH, Hobbs C, Ridley M, Neill S: Altered p53 expression and epidermal cell proliferation is seen in vulvar lichen sclerosus. *J Cutan Pathol* 21 (1994) 316-323
178. Tate JE, Hutter GL, Boynton KA, Crum CP: Monoclonal origin of vulvar intraepithelial neoplasia and some vulvar hyperplasias. *Am J Pathol* 150 (1997) 315-322
179. Tervahauta AI, Syrjänen SM, Väyrynen N, Saastamoinen J, Syrjänen KJ: Expression of p53 protein related to the presence of human papillomavirus (HPV) DNA in genital carcinomas and precancer lesions. *Anticancer Res* 13 (1993) 1107-1111
180. Toki T, Kurman RJ, Park JS, Kessis T, Daniel RW, Shah KV: Probable nonpapillomavirus etiology of squamous cell carcinoma of the vulva in older women: a clinicopathologic study using in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Int J Gynecol Pathol* 10 (1991) 107-125
181. Trimble CL, Hildesheim A, Brinton LA, Shah KV, Kurman RJ: Heterogeneous etiology of squamous carcinoma of the vulva. *Obstet Gynecol* 87 (1996) 59-64
182. Van der Velden J, Hacker NF: Update on vulvar carcinoma. *Cancer Treat Res* 70 (1994) 101-119
183. Van der Velden J, Hacker NF: Prognostic factors in squamous cell cancer of the vulva and the implications for treatment. *Curr Opin Obstet Gynecol* 8 (1996) 3-7
184. Van Hoven KH, Kovatich AJ: Immunohistochemical Staining for Proliferating Cell Nuclear Antigen, BCL2, and Ki-67 in Vulvar Tissues. *Int J Gynecol Pathol* 15 (1996) 10-16
185. Van-Beurden H, ten-Kate FW, Tjong-A-Hung SP, de-Craen AJ, van-der-Vange N, Lammes FB, ter-Schegget J: Human papillomavirus DNA in multicentric vulvar intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 17 (1998) 12-16
186. Van-Beurden M, de-Craen AJ, de-Vet HC, Blaauwgeers JL, Drillenburger P, Gallee MP, de Kraker NW, Lammes FB, ten-Kate FJ: The contribution of MIB1 in the accurate grading of vulvar intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol* 52 (1999) 820-824
187. Vavra N, Kucera H, Weghaupt K: Risikofaktoren beim Plattenepithelkarzinom der Vulva

- im Stadium I und ihr Einfluss auf das Therapieergebnis. *Wien Klin Wochenschr* 102 (1990) 289-294
188. Vilmer C, Cavelier-Balloy B, Nogues C, Trassard M, Le-Doussal V: Analysis of alterations adjacent to invasive vulvar carcinoma and their relationship with the associated carcinoma: a study of 67 cases. *Eur J Gynaecol Oncol* 19 (1998) 25-31
 189. Walts AE, Koeffler HP, Said JW: Localization of p53 protein and human papillomavirus in anogenital squamous lesions: immunohistochemical and in situ hybridization studies in benign, dysplastic, and malignant epithelia. *Hum Pathol* 24 (1993) 1238-1242
 190. Weiderpass E, Ye W, Tamimi R, Trichopolous D, Nyren O, Vainio H, Adami HO: Alcoholism and Risk for Cancer of the Cervix Uteri, Vagina, and Vulva. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10 (2001) 899-901
 191. Wells M, Jenkins M: Selected topics in histopathology of the vulva. *Current Diagn Pathol* 1 (1994) 41-47
 192. Werness BA, Levine AJ, Howley PM: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248 (1990) 76-79
 193. Wilkinson EJ: Tumours of the vulva. In: Kurman RJ, Norris HJ, Wilkinson EJ (Hrsg): *Atlas of Tumor Pathology*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC, 1992, S. 179-255
 194. Wilkinson EJ: Normal histology and nomenclature of the vulva, and malignant neoplasms, including VIN. *Dermatol Clin* 10 (1992) 283-296
 195. Wilkinson EJ: Premalignant and malignant tumours of the vulva. In: Kurman RJ (Hrsg): *Blaustein's pathology of the female genital tract*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1994, S. 87-129
 196. Wittekind Ch, Wagner G: *TNM Klassifikation maligner Tumoren*. 5. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1997
 197. Woodruff JD: Carcinoma in situ of the vulva. *Clin Obstet Gynecol* 34 (1991) 669-676
 198. Yang B, Hart WR: Vulvar intraepithelial neoplasia of the simplex (differentiated) type: a clinicopathologic study including analysis of HPV and p53 expression. *Am J Surg Pathol* 24 (2000) 429-441
 199. Zaino RJ, Husseinzadeh N, Nahhas W: Epithelial alterations in proximity to invasive squamous carcinoma of the vulva. *Int J Gynecol Pathol* 1 (1982) 173-184
 200. Zeimet AG, Marth C, Abfalter E, Müller-Holzner E, Heim K, Pinzger G, Baumgartner P, Daxenbichler G, Dapunt O: Die Wertigkeit von Tumormarkern beim Vulvakarzinom. *Gynäkol Geburtsh Rundsch* 32 (1992) 28-30
 201. Zur Hausen H: Papillomaviruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancers. *Cancer Res* 49 (1989) 4677-4681

9 Thesen

1. Die vorliegende Arbeit umfasst 134 Frauen, die in der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg aufgrund einer gesicherten VIN (n= 23) oder eines vulvären Plattenepithelkarzinoms (n= 111) von 1984-95 primär operiert wurden.
2. Das Vulvakarzinom ist ein Tumor der älteren Frau im mittleren Alter von 64 Jahren mit eingipfliger Altersverteilung. Zum Diagnosezeitpunkt waren 14% der Patientinnen jünger als 50 Jahre und $\frac{1}{3}$ waren über 70 Jahre alt.
3. Die vulväre intraepitheliale Neoplasie (VIN) mit einem Durchschnittsalter von 48 Jahren zeigte eine Altersverteilung mit drei Häufigkeitsmaxima zwischen dem 21.-30., 41.-50. und 71.-80. Lebensjahr. 30% der Frauen waren 30 Jahre und jünger, älter als 70 waren 22%.
4. Bei der Entwicklung eines invasiven Plattenepithelkarzinoms an der Vulva aus der intraepithelialen Neoplasie ist von einer langsamen Progression über ca. 16 Jahre auszugehen.
5. Es lies sich kein Zusammenhang nachweisen, dass die Frauen mit VIN oder Vulvakarzinom im Zeitverlauf jünger wurden. Die Anzahl der Karzinome blieb in den Zeitkohorten von 1984-89 und 1990-95 annähernd gleich, während die VIN eine lediglich geringe Zunahme aufwies zugunsten VIN3.
6. Die Frauen mit Nikotinabusus erkrankten 10-23 Jahre früher als die Nichtraucher, bei zusätzlicher vulvärer Virusinfektion verschob es sich um weitere 4 Jahre ins jüngere Alter.
7. Die Mehrheit der Frauen gaben Beschwerden wie z.B. chronischen Pruritus, palpable Vulvaveränderung oder Brennen an, jedoch trat die VIN signifikant häufiger asymptomatisch auf und wurde in 47% der Fälle innerhalb von 6 Monaten diagnostiziert im Vergleich zu 60% beim Vulvakarzinom. Auch wenn diese uncharakteristischen Symptome kein Frühsignal darstellen, sollte jeder chronische Pruritus diagnostisch abgeklärt werden.
8. Die bevorzugte Lokalisation der Plattenepithelkarzinome und VIN stellten die Labien mit 65% und 91% dar, insbesondere rechtes Labium minus. Die Klitoris war in 20% lediglich vom Karzinom betroffen. VIN trat signifikant häufiger multifokal auf als das Karzinom.
9. 30,4% der VIN und 7,2% der Karzinome waren klinisch als nicht maligne Hautveränderungen eingeschätzt worden.

10. Anhand kliniko- histologischer Kriterien scheinen zwei verschiedene VIN- Gruppen erkennbar: Einerseits eine jüngere Altersgruppe mit bevorzugt multifokal/ -zentrischer, hochgradig dysplastischer VIN, angrenzender Dysplasie sowie Assoziation zu Nikotinabusus, Condylomanamnese und HPV und andererseits ältere Frauen mit unifokal/ -zentrischer VIN, öfters NNVD angrenzend sowie geringerer Assoziation zum HPV, Nikotin und Condylom.
11. Eigene Ergebnisse unterstützen die Hypothese zweier ätiologisch unterschiedlicher Vulvakarzinomformen. Die eine „warty-basaloide“ Gruppe umfasste signifikant jüngere Frauen mit multifokalem Karzinom, angrenzend häufiger VIN und signifikanter Assoziation mit den Risikofaktoren Rauchen und HPV. Die signifikant ältere Gruppe Frauen ohne Nikotinabusus dagegen wies bei histologisch "verhornendem" Typ ein unifokal wachsendes, kaum virusinfiziertes Karzinom mit gehäuft angrenzendem NNVD auf.
12. Die VIN war im Vergleich zum Vulvakarzinom signifikant höher virusinfiziert (74% vs. 23%). Das mittlere Alter der HPV-Infizierten unterschied sich kaum von den Nichtinfizierten innerhalb der Vulvakarzinome und der Krebsvorstufe VIN.
13. 32% der immunhistochemisch untersuchten VIN und 57% der Karzinome zeigten eine p53-Überexpression, was für ein häufiges Ereignis in der Karzinogenese spricht und mit einem Fortschreiten der Erkrankung verbunden ist. Betroffen waren überwiegend die älteren Frauen mit "verhornendem" Vulvakarzinom oder mit VIN. Die Wachstumsfraktion MIB1 war ohne Beziehung zum p53 und unterschied sich zwischen VIN und Karzinom nicht.
14. Bei Nachweis einer p53-Überexpression ließ sich tendenziell seltener eine HPV-Infektion finden. Die positive Onkogenexpression und die Koexpression in 15-21% der Fälle mit HPV ging mit Prognoseverschlechterung einher.
15. In der Verteilung des tumorangrenzenden Gewebes zeigten VIN und Vulvakarzinome signifikante Unterschiede. Die VIN waren bevorzugt von normalem und dysplastischem Plattenepithel umgeben, während bei den Karzinomen eine Verschiebung zugunsten NNVD und Dysplasie erkennbar war. 5% der VIN und 45% der Karzinome wiesen eine p53-Onkogenexpression im umgebenden Plattenepithel auf.

Tabellarischer Lebenslauf

Name: Kathrin Katzer

Geburtsdatum: 08.09.1967

Geburtsort: Halle/Saale

Familienstand: ledig

Konfession: römisch katholisch

Nationalität: Deutsch

1974-1984 Polytechnische Oberschule in Halle/S.

1984-1986 Erweiterte Oberschule in Halle/S. -Abschluss mit Abitur

1986-1987 Pflegerisches Pflichtvorpraktikum im Bergmannstrost in der Pädiatrie

1987-1993 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (MLU) in Halle/Saale

1992-1993 Praktisches klinisches Jahr

Chirurgie /Innere Medizin: St. Elisabeth Krankenhaus in Halle/S.

Gynäkologie /Geburtshilfe:Regionalspital Rheinfelden (Schweiz)

St. Barbara Krankenhaus in Halle/S.

9/1993 Kolloquium und Abschluss des Studiums der Humanmedizin

10/1993-1/1994 Auslandsaufenthalt in Indien und Nepal

2-8/1994 Arzt im Praktikum als Pre-registration House Officer in Chirurgie am Royal Albert Edward Infirmary in Wigan (Nordwest-Großbritannien)

1/1995-1/1996 Arzt im Praktikum am Institut für Pathologie der MLU

1-6/1996 Arzt in Weiterbildung am Institut für Pathologie der MLU

10/1996-2/1999 Arzt in Weiterbildung an der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der MLU Halle-Wittenberg

3-7/1999 Arzt in Weiterbildung an der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg

8/1999-12/2000 Geburt meines Sohnes Vinzenz, Erziehungszeit

1/2001-4/2003 Arzt in Weiterbildung an der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU

5/2003-2/2005 Arzt in Weiterbildung an der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der MLU

2/2005 Weiterbildungsabschluß als Fachärztin für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Halle/Saale, den 28.4.2005

Kathrin Katzer

Erklärung

Diese Promotionsarbeit ist bisher an keiner weiteren Fakultät eingereicht bzw. abgelehnt worden.

Ein früherer Promotionsversuch ist nicht erfolgt.

Die Arbeit oder Teile von ihr sind bisher nicht publiziert worden.

Halle/Saale, den 28.4.2005

Kathrin Katzer

Danksagung

Am Ende dieser Promotionsarbeit möchte ich meinen akademischen Lehrern, Freunden und insbesondere meiner Familie für die stete Unterstützung danke sagen, die zum Gelingen und der jetzt möglichen Präsentation dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders danken möchte ich:

Herrn Prof. Dr. med. habil. K. Rothe, emeritierter Direktor der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg für die freundliche Überlassung des Themas,

Herrn Prof. Dr. med. habil. Chr. Thomssen, jetziger Direktor der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der MLU Halle-Wittenberg für das freundliche Entgegenkommen und die Bereitschaft der Themenübernahme,

Herrn PD Dr. med. habil. J. Buchmann, Chefarzt des Institutes für Pathologie des Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dörlau gGmbH, für die stets anregende Diskussion und hilfreiche Beratung bei der Anfertigung/ Fertigstellung meiner Dissertation sowie die stete Unterstützung durch Hinweise auch bei der Begutachtung und Einschätzung der Präparate der Histologie und in-situ-Hybridisierung;

Herrn Prof. Dr. med. habil. H.-J. Holzhausen für die Unterstützung durch die gemeinsame Nachbefundung der immunhistochemischen Präparate sowie den Mitarbeitern des Labors für Histochemie am Institut für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg für die Durchführung der immunhistochemischen Markierung der Gewebe;

Frau Weinheimer, MTA im Zellbiologischen Labor für die gewissenhafte Einführung in die Technik der in-situ Hybridisierung und Hilfe bei Interpretation der Laborbefunde;

und meiner Familie und meinen Eltern für die Hilfsbereitschaft und ausdauernde Geduld, mir und dieser Arbeit zu liebe auf Verschiedenes zu verzichten.