

Aus der  
Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde  
Mit Poliklinik Tübingen

**Retrospektive, pseudonomysierte, serologische  
Antikörperanalyse von Serumproben im Rahmen der  
Standarddiagnostik der Rezidivierenden Respiratorischen  
Papillomatose hinsichtlich des Antikörperstatus  
auf Humanes Papilloma Virus (HPV)**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Beranek, Katrin Maria, geb. Ehmke**

**2022**

Dekan:	Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter:	Professor Dr. H. Löwenheim
2. Berichterstatter:	Professor Dr. Dr. K. Hamprecht
Tag der Disputation	08.09.2022

Meiner Familie &  
PD. Dr. Phillipp Gonser

# Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>1</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>4</b>
<b>TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
1.1. REZIDIVIEREND RESPIRATORISCHE PAPILLOMATOSE .....	7
1.2. EPIDEMIOLOGIE DER RRP .....	7
1.2.1. <i>Juvenile Form der RRP/ JORPP</i> .....	8
1.2.2. <i>Adulte Form der RRP/ AORRP</i> .....	8
1.3. ÄTIOLOGIE DER RRP .....	8
1.4. DAS HPV GENOM .....	11
1.5. PATHOHISTOLOGIE .....	13
1.6. INFEKTIONSWEG .....	14
1.6.1 <i>Infektionsweg bei AORRP</i> .....	14
1.6.2 <i>Infektionsweg bei JORRP</i> .....	15
1.7. <i>Klinisches Erscheinungsbild der RRP</i> .....	16
1.8. DIAGNOSTIK .....	18
1.9. THERAPIE .....	18
1.9.1. <i>Operative Techniken</i> .....	19
1.9.2. <i>Interferon Alpha &amp; Pegyliertes Interferon</i> .....	21
1.9.3. <i>Cidofovir</i> .....	23
1.9.4. <i>Cyclooxygenase Typ 2 Inhibitoren</i> .....	24
1.9.5. <i>Indol-3-carbinol</i> .....	25
1.9.6. <i>Antazida</i> .....	26
1.9.7. <i>Bevacizumab</i> .....	26
1.9.8. <i>Photodynamische Therapie (PDT)</i> .....	27
1.10. SCHUTZIMPfung GEGEN HPV-INFEKTIONEN .....	27
1.11. ZIELSETZUNG DER ARBEIT .....	31
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>33</b>
2.1. VOTUM DER ETHIKKOMMISSION .....	33
2.2. EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN DES PATIENTENKOLLEKTIVS .....	33
2.2.1. <i>Einschlusskriterien</i> .....	33
2.2.2. <i>Ausschlusskriterien</i> .....	33

2.2.3. Zusammensetzung des Gesamtkollektivs .....	34
2.3. DATENERHEBUNG .....	34
2.4. ANALYSE DER PATIENTENSEREN DURCH HT-PBNA .....	36
2.5. DATENBANK .....	37
2.6. STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	37
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>39</b>
3.1. EPIDEMIOLOGIE DES PATIENTENKOLLEKTIVS .....	39
3.1.1. Alter bei Erstdiagnose des Gesamtkollektivs .....	40
3.1.2. Alter bei der Erstdiagnose einer JORRP .....	40
3.1.3. Alter bei der Erstdiagnose einer AORRP .....	42
3.2. LOKALISATION DER RESPIRATORISCHEN PAPILLOME .....	43
3.2.3 Verteilung der HPV Typen .....	45
3.3. OPERATIVE INTERVENTIONEN VOR DER IMPFUNG .....	46
3.4. ADJUVANTE THERAPIE MIT CIDOFOVIR .....	48
3.4.1. Adjuvante Therapie mit Cidofovir vor der Impfung .....	48
3.4.2. Adjuvante Therapie mit Cidofovir während der Impfphase.....	49
3.4.3. Patienten ohne adjuvante Cidofovir-Therapie.....	50
3.5. ADJUVANTE IMPFUNG MIT GARDASIL® BZW. GARDASIL9® .....	50
3.5.1. Impfquote und zeitliche Abstände zwischen den Impfungen .....	50
3.5.2. Alter zum Zeitpunkt der Erstimpfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®.....	54
3.5.3. Rezidive nach adjuvanter Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®.....	54
3.5.4. Behandlungsergebnisse nach Abschluss des 3er Impfschemas .....	56
3.6. ANALYSE DES HPV-ANTIKÖRPERSTATUS BEI PATIENTEN MIT RRP .....	57
3.6.1. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 6 .....	58
3.6.2. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 16 .....	60
3.6.3. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 18 .....	62
3.7. HPV-ANTIKÖRPERSTATUS-ANALYSE BEI PATIENTEN MIT AORRP .....	65
3.7.1. Antikörperstatus bei AORRP in Bezug auf den HPV Typ 6.....	65
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>68</b>
4.1. DISKUSSION DER PATIENTENCHARAKTERISTIKA.....	71
4.1.2. Diskussion der Patientencharakteristika bei AORRP .....	71
4.1.2. Diskussion der Patientencharakteristika bei JORRP .....	71
4.1.3. Diskussion der Lokalisation der RRP .....	72
4.2. DIE PRÄVALENZ DER HPV TYPEN IM KOLLEKTIV .....	73
4.3. DISKUSSION DES TÜBINGER THERAPIEREGIMES DER RRP .....	75
4.3.1. Diskussion der operativen Technik.....	75

4.3.2. <i>Adjuvante Injektion von Cidofovir</i> .....	76
4.4. ANTIKÖRPERSTATUS BEI RRP & IMMUNISIERUNG MIT GARDASIL® .....	78
4.5 AUSBLICK .....	82
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>84</b>
5.1 ZUSAMMENFASSUNG .....	84
5.2. ABSTRACT .....	86
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>88</b>
<b>7. ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL.....</b>	<b>98</b>
<b>8. DANKSAGUNG.....</b>	<b>100</b>
<b>9. LEBENSLAUF .....</b>	<b>101</b>

# Abkürzungsverzeichnis

(Alphabetisch sortiert.)

- AORRP = adult-onset RRP
- COX-2 = Cyclooxygenase Typ 2
- DKFZ = Deutsches Krebsforschungszentrum
- DNS = Desoxyribonukleinsäure
- dsDNS = Doppelstrang Desoxyribonukleinsäure
- EC50 = mittlere, effektive Konzentration
- EGFR = Epidermal Growth Factor Receptor
- HNO = Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
- HPV = Humane Papillomaviren
- HSV2 = Herpes Simplex Virus 2
- IARC = International Agency for Research on Cancer
- JORRP = juvenil-onset RRP
- MIN = Minimum
- MAX = Maximum
- PGE2 = Prostaglandin E2
- PEG-IFN = pegylierte Interferon
- RRP = rezidivierend respiratorische Papillomatose
- SD = standard deviation (Standardabweichung)
- StIKo = Ständige Impfkommission des Robert-Koch-Instituts
- USD = US-Dollar
- VLP = virus-like particles
- VZV = Varizella-Zoster-Virus

# Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

TABELLE 1: KLASSIFIKATION DER HPV TYPEN .....	9
ABBILDUNG 1: DER AUFBAU DES HPV GENOMS.....	12
TABELLE 2: EMPFOHLENE, OPERATIVE TECHNIK NACH LOKALISATION DER PAPILLOME.....	20
TABELLE 3: UNERWÜNSCHTE ARZNEIMITTELNEBENWIRKUNGEN VON INTERFERON ALPHA 2A.....	22
TABELLE 4: UNERWÜNSCHTE ARZNEIMITTELNEBENWIRKUNGEN VON CIDOFOVIR (VISTIDE®) .....	23
TABELLE 5: AKTUELL ZUGELASSENE IMPFSTOFFE GEGEN HUMANE PAPILLOMAVIREN.....	28
TABELLE 6: UNERWÜNSCHTE ARZNEIMITTELNEBENWIRKUNGEN VON GARDASIL®/GARDASIL9®.....	29
ABBILDUNG 2: ZUSAMMENSETZUNG DES GESAMTKOLLEKTIVS .....	39
TABELLE 7: ALTERSVERTEILUNG BEI DER ERSTDIAGNOSE IM GESAMTKOLLEKTIV .....	40
TABELLE 8: ALTERSVERTEILUNG BEI DER ERSTDIAGNOSE EINER JORRP .....	41
TABELLE 9: ALTERSVERTEILUNG BEI DER ERSTDIAGNOSE EINER AORRP.....	42
TABELLE 10: LOKALISATION DER RRP .....	43
TABELLE 11: GRAD DER DISSEMINATION DER RRP .....	44
ABBILDUNG 3: ANZAHL BETROFFENER LOKALISATIONEN.....	44
TABELLE 12: VERTEILUNG DER HPV-TYPEN .....	45
ABBILDUNG 4: VERTEILUNG DER HPV-TYPEN IM KOLLEKTIV .....	46
TABELLE 13: OPERATIVE THERAPIE VOR IMPFBEGINN .....	47
TABELLE 14: ORT DER VOR-OPERATIONEN .....	47
TABELLE 15: ADJUVANTE THERAPIE MIT CIDOFOVIR VOR DER IMPFUNG.....	49
TABELLE 16: PATIENTEN OHNE ADJUVANTE CIDOFOVIR THERAPIE.....	50
TABELLE 17: IMPFUNG MIT GARDASIL® BZW. GARDASIL9®.....	51
ABBILDUNG 5: ZEITLICHER ABSTAND BEI DER IMPFUNG MIT GARDASIL® / GARDASIL9®.....	52
TABELLE 18: ABGESCHLOSSENE IMPFUNG MIT GARDASIL®/GARDASIL9® BINNEN EINES JAHRES.....	53
TABELLE 19: ALTER BEI ERSTIMPFUNG MIT GARDASIL® BZW. GARDASIL9®.....	54
TABELLE 20: REZIDIV POST 3. IMPFUNG .....	55
TABELLE 21: REZIDIVFREIES INTERVALL POST 3. IMPFUNG .....	55
ABBILDUNG 6: BEHANDLUNGSERGEBNISSE POST 3. IMPFUNG MIT GARDASIL® BZW. GARDASIL9® .....	56
ABBILDUNG 7: ÜBERLEBENSZEITANALYSE NACH KAPLAN-MAIER.....	57
TABELLE 22: HPV 6 ANTIKÖRPERSTATUS IN DER GRUPPE DER JORRP .....	59
ABBILDUNG 8: HPV6 ANTIKÖRPERSTATUS BEI JORRP .....	60
TABELLE 23: HPV 16 ANTIKÖRPERSTATUS IN DER GRUPPE DER JORRP .....	61
ABBILDUNG 9: HPV16 ANTIKÖRPERSTATUS BEI JORRP .....	62
TABELLE 24: HPV 18 ANTIKÖRPERSTATUS IN DER GRUPPE DER JORRP.....	63
ABBILDUNG 10: HPV18 ANTIKÖRPERSTATUS BEI JORRP .....	64

TABELLE 25: HPV 6 ANTIKÖRPERSTATUS IN DER GRUPPE DER AORRP .....	66
ABBILDUNG 11: HPV6 ANTIKÖRPERSTATUS BEI AORRP .....	67

# 1. Einleitung

## 1.1. Rezidivierend respiratorische Papillomatose

Die rezidivierend respiratorische Papillomatose (RRP) stellt eine seltene, benigne, durch eine virale Infektion ausgelöste Erkrankung der Atemwege dar. Als Ursprung gilt eine Infektion mit Humanen Papillomaviren (HPV). Zu den häufigsten, auslösenden HPV Typen zählen der HPV-Typ 6 und HPV-Typ 11 sowie an zweiter Stelle die HPV-Typen 16 und 18. Diese können in Folge einer Infektion chronische, multiple sowie exophytisch wachsende Plattenepithelpapillome verursachen. Am häufigsten lokalisieren sich die warzenartigen Läsionen im Bereich des Larynx. Aufgrund der hohen Rezidivrate mit *„mehr als durchschnittlich vier Eingriffen pro Jahr“* (Venkatesan et al., 2012) kann die RRP langfristig zu wiederholter Hospitalisierung, operativen Interventionen und demzufolge zu einer hohen Morbidität führen. Daraus resultieren unter anderem ein hoher Leidensdruck mit psychisch-sozialer Belastung der Betroffenen bis hin zur Depression (San Giorgi et al., 2017) sowie hohe Kosten für das Gesundheitssystem, die zum Beispiel in Amerika mit jährlich 120 Millionen USD für das amerikanische Gesundheitswesen sowie 60.000 USD pro Patienten pro Jahr beziffert werden (Derkay & Bluher, 2019). Betrachtet man den klinischen Verlauf der RRP, so gestaltet sich dieser als äußerst variabel. Die papillomatösen Veränderungen führen in milder Variante vornehmlich zu Heiserkeit und Sprachschwierigkeiten. In schweren Fällen können sie jedoch bis hin zur akuten Obstruktion der Atemwege und schwerer Dyspnoe zu lebensbedrohlichen, teils sogar letalen Verläufen führen. Bei wenigen Patienten kam es im Verlauf zu einer spontanen Regression, *„bei 3-7% Prozent besteht allerdings das Risiko der malignen Entartung“* (Gallagher & Derkay, 2009).

## **M = wln** 1.2. Epidemiologie der RRP

Die rezidivierend respiratorische Papillomatose weist eine bimodale Altersverteilung auf: in Form der juvenilen onset RRP (JORRP), erstmalig diagnostiziert binnen der ersten 12 Lebensjahre oder in Form der adulten onset RRP (AORRP) im Jugendlichen- und Erwachsenenalter (Gallagher & Derkay, 2009). Die RRP stellt,

betrachtet über alle Altersstufen, 10% aller laryngealen Tumoren und mit 87% ein Gros der gutartigen Tumoren des Larynx (Andratschke et al., 2008).

### **1.2.1. Juvenile Form der RRP/ JORPP**

Die JORRP manifestiert sich zumeist zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr. Der Höhepunkt der Erstdiagnose liegt bei 3,8 Jahren (Armstrong et al., 1999). Andratschke et al. (2008) titulierte die juvenile Ausprägung als sogenannte „*aggressive Larynxpapillomatose*“. Denn je früher die Erkrankung in Erscheinung tritt, desto schwerer wiegt die Symptomatik und desto häufiger verläuft diese mit aggressiver Progredienz (Buchinsky et al., 2008). Beide Geschlechter sind von der JORRP gleichermaßen betroffen (Andratschke et al., 2008). Die Inzidenz liegt bei rund 4,3 Fälle auf 100.000 Personen (Dedo & Yu, 2001) und stellt den häufigsten benignen Larynxtumor bei Kindern dar (Wiatrak et al., 2004). Erkrankte Kinder benötigen therapeutisch viele, bis hin zu 20 operativen Interventionen pro Jahr (Armstrong et al., 1999). Im ersten Jahr nach Manifestation zählten Armstrong et al. (1999) im Schnitt 4,9, in den darauffolgenden Jahren im Schnitt 4,4 pro Jahr. Drastische Krankheitsverläufe mit hunderten Eingriffen im Verlauf werden ebenfalls in der wissenschaftlichen Literatur in Einzelkasuistiken beschrieben. Mauz et al. (2014) beschrieben beispielsweise einen Fall mit 132 Interventionen in 17 Jahren bei einem 19-jährigen Patienten mit JORPP.

### **1.2.2. Adulte Form der RRP/ AORRP**

Die adulte RRP (AORRP) manifestiert sich zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr (Andratschke et al., 2008). Sie verläuft zumeist milder als die juvenile Form. Zudem dominiert hier in Relation von 2:1 bis 4:1 das männliche Geschlecht (Armstrong et al., 1999). Die Inzidenz der adulten Form liegt bei 1,8 Fällen auf 100.000 Personen (Dedo & Yu, 2001).

## **1.3. Ätiologie der RRP**

Sir Morrell Mackenzie beschrieb als Erster Ende des 18. Jahrhunderts den Zusammenhang zwischen RRP und Humanen Papillomviren bei Kindern (Goon et

al., 2007). 50 Jahre später, im Jahre 1923 inokulierte sich Ullmann in einem Selbstversuch mit Humanen Papillomaviren am Arm. Das infektiöse Gewebe hierfür stammte aus dem Rachen eines sechsjährigen Jungen (Andratschke et al., 2008). So konnte er laut Andratschke et al. (2008) die virale Genese der Erkrankung aufzeigen: „Nach etwa 3 Monaten war es an dieser Stelle zum Wachstum von mehreren kleinen Warzen gekommen.“ 1980 gelang Quick et al. (1980) der genetische Nachweis von HPV in einer Probe eines Larynxpapilloms. Zwei Jahre später bestätigten Gissmann et al. (1982) und Mounts et al. (1982) die Annahme, dass eine Infektion mit HPV die Ursache der RRP darstellte.

Humane Papillomviren gehören zur Gattung der Papillomviren und bilden eine große Gruppe kleiner DNS-Viren. Mittlerweile werden über 200 verschiedene Typen beim Menschen beschrieben. 170 davon sind bereits komplett klassifizierte HPV-Typen (Bernard et al., 2010). Die Klassifikation der HPV erfolgt nach ihrem onkogenen Potenzial: Die IARC (International Agency for Research on Cancer) Klassifikation unterscheidet dabei HPV-Viren mit einem erhöhten (high), mittleren (intermediate) sowie niedrigen (low) Risiko (risk) zur malignen Transformation.

**Tabelle 1: Klassifikation der HPV Typen**

Gruppe	Karzinogenität	Risiko
Gruppe 1	Karzinogen	high risk – hohes Risiko
Gruppe 2A	Bedingt karzinogen	high risk – hohes Risiko
Gruppe 2B	Möglicherweise karzinogen	intermediate risk – mittleres Risiko
Gruppe 2B		unknown risk – unbekanntes Risiko
Gruppe 3		low risk – geringes Risiko

*Tabelle 1: Risikoklassifikation verschiedener HPV Typen nach IARC (2017)*

Betrachtet man die Entstehung neu auftretender, humaner Karzinome pro Jahr im weltweit im Allgemeinen, wird die Bedeutung von HPV deutlich. 600.000 davon zählen de Martel et al. (2012) ausgehend von einer prädisponierenden Infektion mit einem HPV-Virus: Darunter fallen 100 % aller Zervixkarzinome, 88% der Analkarzinome, 70% der Vaginal-Karzinome sowie 50% der auftretenden Vulva- und Penis-Karzinome. Interessanterweise variiert die Prävalenz einer vorliegenden HPV-Infektion bei oropharyngealen Karzinomen je nach geografischer Lokalisation: So beschreiben de Martel et al. (2012) für Nord Amerika eine Rate von 56%, für Japan eine Rate von 52%, wohingegen in Süd Europa nur in 17% der Fälle ein mit der kanzerösen Veränderung assoziiertes HPV-Virus nachgewiesen wurde. Histopathologisch gesehen, handelt es sich in Folge sowohl um Plattenepithel- als auch um Adenokarzinome.

In Bezug auf die RRP auslösenden HPV-Typen gelten („high-risk“) Typen 16 und 18 als karzinogen mit hohem Risiko. Gerade HPV 16 und 18 nehmen diesbezüglich einen Sonderstatus ein, da ihr onkogenes Potenzial deutlich über dem der restlichen („high-risk“) HPV-Typen mit hohem Risiko liegt: So lösen sie beispielsweise über 70 Prozent aller durch HPV bedingten invasiven Zervixkarzinome aus (Muñoz et al., 2003). Die Induktion des Zervixkarzinoms wird hauptsächlich dem HPV 16 angelastet. Sowohl HPV 16 als auch 18 spielen eine entscheidende Rolle bei der Genese laryngealer und oropharyngealer Karzinome aufgrund ihrer Tendenz zur malignen Transformation (Bosch et al., 1995).

Muñoz et al. (2003) bekräftigten in ihren Untersuchungen weiterhin das geringe Risiko mukosaler HPV-Typen mit geringem Risiko („low-risk“), darunter HPV 6 oder HPV 11, karzinogene Dysplasien zu verursachen. Bei Patienten mit RRP werden nur in 2-4% der Fälle Karzinome durch HPV Typ 11 sowie sporadisch durch HPV Typ 6 beschrieben (Huebbers et al., 2013).

HPV infizieren in vivo Plattenepithelien der Haut und Schleimhaut über Mikroläsionen, wobei Verletzungen der protektiven Schicht der Zelle den Zugang zur Basalzellschicht ermöglichen (Ozbun, 2019). Die tatsächliche Internalisierung

des HPV Virus ist aktuell noch nicht vollständig aufgeklärt, verläuft jedoch möglicherweise durch eine Komplexbildung aus HPV-assoziierten Rezeptoren der Zelle. Alternativ erachten Raff et al. (2013) sowie Ozbun (2019) sogar mehrere unterschiedliche Eintrittswege für möglich, die durch verschiedene Oberflächenmoleküle im Rahmen der Wundheilung ermöglicht werden. Tritt eine Infektion mit HPV ein, können leichte Dysplasien, Warzen, benigne Kondylome, aber auch orale Papillome oder beispielsweise die RRP als Folge entstehen.

#### **1.4. Das HPV Genom**

Humane Papillomviren sind unbehüllte, kleine Tumoviren aus zirkulärer Doppelstrang Desoxyribonukleinsäure (dsDNA). Ihr Genom zählt 8000 Basenpaare. Die Viren sind obligat intrazellulär. Ihr Durchmesser beträgt 55 nm. Das HPV-Kapsid besteht aus einem L1-Haupt-Kapsid-Protein sowie einem L2-Neben-Kapsid-Protein. Das Genom der meisten Papillomviren zeigt sich dabei mit dem gleichen, allgemeinen Aufbau (Akagi et al., 2013).

Das HPV-Genom (siehe Abbildung 1) kodiert für sechs frühe, „early“ Proteine (E1, E2, E4-E7) sowie zwei spät im viralen Vermehrungszyklus exprimierte späte, „late“ Proteine (L1 sowie L2). Zudem enthält es die so genannte lange Kontroll-Region („long control region“, kurz „LCR“) (Graham, 2017).

Abbildung 1: Der Aufbau des HPV Genoms

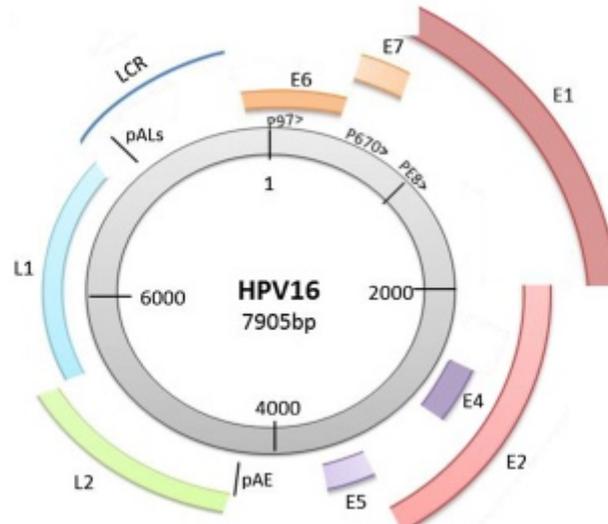


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Aufbaus des HPV Genoms anhand des HPV Typ 16: E1, E2, E4, E5, E6, E7 (early) sowie L1 & L2 (late), bp (Basenpaare), pALs (poly-Adenylation-late), pAE (poly-Adenylation-early), LCR (long control region, p97, p670, pE8 (promotor); (Graham & Faizo, 2017)

bei JORRP\_lulären Tumorsuppressor-Proteinen interagieren. E6 bindet an das Tumorsuppressor-Gen p53; E7 an das Retinoblastomgen pRb. Die Bindung von E6 und E7 ist bei „high-risk“ HPV Typen deutlich stärker ausgeprägt als bei HPV Typen mit geringem Risiko („low-risk“). Somit beschleunigen E6 und E7 die Zellproliferation betroffener Zellen. Zudem stört E6 essenzielle DNS-Reparaturenzyme, während E7 strukturelle sowie numerische Chromosomenveränderungen auslöst (Graham, 2017). Letzten Endes entstehen fatale DNS-Fehler. Für die infizierte, entartete Zelle ist es nicht mehr möglich, die Apoptose einzuleiten. Im Gesamten betrachtet, führen E6 und E7 somit zu starker genetischer Instabilität und zur Unsterblichkeit der Zelle (Torrente et al., 2011).

Dahingegen bauen die späten, strukturellen Proteine L1 und L2 die Kapsidhülle des HPV-Virus auf. Bindet ein Viruspartikel mit dem L1-Kapsidprotein an die Oberflächen-Rezeptoren epithelialer Basalzellen, so erfolgt eine Konformitätsänderung des Kapsids. Das Virus kann in die Zelle eindringen und gelangt zum Zellkern (Kines et al., 2009); dort repliziert sich anschließend die virale DNA.

HPV-Viren sind somit in der Lage, eine Zelle aktiv durch Virusvermehrung in Form einer lokalen Infektion zu infizieren, ohne dabei ihr Genom in die Wirtszelle selbst zu integrieren (Graham, 2017). Bei der aktiven Infektion erfolgt keine Lyse der Zelle. Im Verlauf tritt dementsprechend weder eine Virämie auf, noch imponieren Allgemeinsymptome beim Patienten. Auch die begleitende Entzündungsreaktion bleibt aus, da das Virus lange Zeit für die Zellen des Immunsystems unsichtbar bleibt. Bei zufällig durchgeführten postmortalen Biopsien lag die Rate der HPV positiven, aber klinisch blanden Mukosa bei rund 25% (Nunez et al., 1994).

## **1.5. Pathohistologie**

Die RRP zeigt sich meist am direkten Übergang zwischen Platten- und Flimmerepithel (Andratschke et al., 2008). Dabei weisen Bereiche mit Papillomatose eine normale bis hyperplastische Basalzellschicht auf. Jedoch ist die Differenzierung der Zellen anormal und sowohl die Produktion als auch die Expression an Keratinen gestört. Kashima et al. (1992) beschreiben die Lokalisation der meisten Papillome an der laryngealen Epiglottis, im Larynxventrikel, auf den Stimmlippen und an der Carina. Oberflächlich imponieren die Papillome als breitbasig, höckerig oder gestielt (Riede & Werner, 2017).

## 1.6. Infektionsweg

### 1.6.1 Infektionsweg bei AORRP

Der genaue Infektionsweg der RRP ist bislang unbekannt. Dennoch lassen sich Schlüsse bezüglich des Übertragungsmechanismus ziehen. Humane Papillomaviren werden vorrangig bei Erwachsenen durch zumeist direkten sexuellen Kontakt übertragen. Die Infektion verläuft jedoch meist transient, asymptomatisch und vom Patienten selbst unbemerkt. Bezüglich der AORRP kann die Infektion durch orogenitale Sexualpraktiken in die Mundhöhle oder den Oropharynx übertragen werden.

Im Zervikalbereich besteht bei jungen Frauen eine hohe Prävalenz von HPV: Die Infektionsrate liegt hier bei bis zu 50,2% (Bosch et al., 1995) und nimmt mit zunehmendem Alter über 30 Jahre ab, wobei die Wahrscheinlichkeit der Persistenz des Virus ansteigt (Iftner et al., 2010). Bei Männern hingegen liegt die Prävalenz von HPV konstant über alle Altersgruppen bei rund 30%. Hier sind gerade anogenitale Infektionen bei gesunden, sexuell aktiven Männern zu nennen, wobei sich die hohe Infektionsrate durch wiederholte Reinfektion erklären lässt (Anic & Giuliano, 2011).

Betrachtet man orale HPV Infektionen bei gesunden Männern und Frauen liegt die Prävalenz bei 4-7%. „High-risk“ HPV-DNS konnte in 1,3-3,7% nachgewiesen werden, wobei HPV 16 als häufigster Typ mit 0,6-1% zu Buche schlägt. Als Hauptrisikofaktoren für orale HPV-Infektionen sind chronischer Tabak- und Alkoholkonsum sowie wechselnde Sexualkontakte anzuführen (Andratschke et al., 2015). Starkes Rauchen und Alkoholismus, männliches Geschlecht, höheres Alter, weiße Hautfarbe und Immunsuppression stellen bei persistierenden Infektionen mit HPV maßgebliche Risikofaktoren dar (Tota et al., 2019). Im anogenitalen Bereich zeigt sich eine signifikante Rate an Trägern des HPV-Virus. Dies stellt das wahrscheinlichste Reservoir des Virus dar. Hierbei imponieren maßgeblich HPV 6, 11, 16 und 18. Da jedoch der Übertragungsweg der RRP noch nicht hin-

reichend bekannt sowie eine Vermehrung in der einfachen Zellkultur nicht möglich ist, sind diesbezügliche Nachforschungen zur Pathogenese der Erkrankung erschwert. Somit ergibt sich als Hinweis der anogenitale Raum als bedeutendster und wahrscheinlichster Infektionsherd des respirativen Systems.

### **1.6.2 Infektionsweg bei JORRP**

Betrachtet man den Infektionsweg der juvenilen Form einer HPV Infektion, zeigt sich die peripartale Infektion des Fetus als wahrscheinlichste Erklärung für einen HPV positiven Befund bei Neugeborenen (Syrjänen, 2018). Reservoir des Virus stellt der infizierte maternale Genitaltrakt dar. Besteht während der Schwangerschaft eine aktive, maternale Infektion, steigt das kindliche Risiko an einer RRP zu erkranken um den Faktor 231. Dies zeigte eine Untersuchung von mehr als 3000 Kindern durch Silverberg et al. 2003. Dabei betraf dies vor allem Kinder von Erstgebärenden bei spontan vaginaler Entbindung (Kashima et al., 1992). Dies sei laut den Autoren auf eine längere Geburtsdauer und somit verlängerte Virusexposition des Fetus im Geburtskanal zurückzuführen.

In Nasen-Rachen-Abstrichen ergaben sich bei 33% der Säuglinge HPV-positiver Mütter ein positiver Virusnachweis (Syrjänen, 2018). Tatsächlich käme es trotz hoher Prävalenz jedoch nur bei einem geringen Anteil zur Manifestation einer Papillomatose. Dementsprechend manifestieren sich die RRP trotz aktiver HPV-Infektion Schwangerer erstaunlich selten (Tenti, 1999).

Als begünstigende, sekundäre Krankheitsfaktoren sind ein geschwächter Immunstatus, eine erhöhte Dauer der Virusexposition sowie eine hohe Viruslast oder eine traumatische Verletzung zu sehen, wie zum Beispiel Traumata während einer Intubation (Kashima et al., 1992; Larson & Derkay, 2010; Tenti, 1999).

Der Schluss, eine mögliche primäre Sectio könne einen effektiven und sicheren Schutz vor Ansteckung bei mütterlicher, genitaler HPV-Infektion darstellen, wurde schon durch Kosko und Derkay (1996) widerlegt. Zudem sei eine Sectio nicht nur mit erhöhten maternalen Risiken verbunden, sondern verursache auch höhere Kosten (Kosko & Derkay, 1996). Marfatia et al. (2009) stellte nur eine

klinische Indikation fest, welche eine primäre Sectio im Falle einer maternalen HPV Infektion rechtfertigte: das Vorhandensein von extremen, vaginalen oder den Introitus vaginae blockierenden Warzen, welche den Geburtskanal verlegen. Solche massiven Veränderungen sollten jedoch bereits vorgeburtlich durch Laserablation oder mittels Elektrokauter entfernt werden (Marfatia et al., 2009).

Im Rahmen einer Untersuchung des Immunsystems an RRP erkrankter Kinder durch Stern et al. (2007) zeigten sich ein erniedrigter CD4/CD8 Quotient sowie ein vermindertes lymphozytäres Ansprechen auf mitogene Stimulation. Eine inadäquate Leistung des zellulären Immunsystems könnte also eine mögliche Ursache der Erkrankung oder einen begünstigenden Faktor darstellen.

Eine alternative Hypothese von Larson und Derkay (2010) vermutet, auch die adulte RRP basiere eventuell auf der Reaktivierung einer latenten, perinatalen Infektion. Bis zum Beginn der Erkrankung könne sich die Schleimhaut als klinisch gesund darstellen (Rihkanen et al., 1993), da bei einer latenten Infektion nur die Basalzellschicht der Zellen betroffen sei.

### **1.7. Klinisches Erscheinungsbild der RRP**

Zu den eindrucklichsten Symptomen der rezidivierend respiratorischen Papillomatose (RRP) zählen Heiserkeit, Stridor sowie Dyspnoe (Long & Sani, 2003). Ferner können folgende Nebensymptome hinzukommen: chronischer Husten, wiederholte Pneumonien, Dysphagie sowie die juvenile Gedeihstörung.

In der Gesamtschau lassen diese Anzeichen auf den ersten Blick ein geläufiges Asthma bronchiale oder ein Krupp-Syndrom vermuten und können initial zu Fehldiagnosen verleiten. Ebenfalls kommen differenzialdiagnostisch bei juvenilem Stridor eine Laryngomalazie, eine subglottische Stenose oder eine Parese der Stimmlippen in Betracht. Im Schnitt vergehen 1 bis 8 Jahre zwischen der Erstmanifestation der Erkrankung und einer gesicherten Diagnose (Tjon Pian Gi et al., 2014). Häufig kommt es erst beim Eintritt einer akuten respiratorischen Not-situation zur tatsächlichen Diagnose (Derkay, 2001), die demnach bei der Trias

Heiserkeit, Stridor und Dyspnoe immer differenzialdiagnostisch berücksichtigt werden sollte.

Insgesamt zeigt sich ein sehr variabler Verlauf der Erkrankung. Derkay (2001) beschrieb Patienten, bei denen eine kurative Therapie gelang, während andere zu häufigen Rezidiven neigten oder wiederholter operativer Eingriffe bedurften. Uloza (2000) bezifferte die Rezidivrate der JORRP mit 71,9% und mit 22,8% bei der AORRP. Zudem betrage das Rezidiv freie Intervall nur wenige Monate: bei Kindern zwischen 1-5 Monate (im Mittel 1,35), bei Erwachsenen nur knapp 1-18 (im Mittel 3,2) Monate. In circa 4-5% der juvenilen Fälle kam es zu weiter reichenden Folgen wie beispielsweise Läsionen im distalen Abschnitt der Trachea, in 1% zu Läsionen in den Bronchien oder im Parenchym der Lunge.

Orji et al. (2012) beobachteten den klinischen Verlauf von 59 Patienten, sowohl mit JORPP als auch AORPP: Trotz einer bei 42 Prozent liegenden Rate an Tracheotomien im Patientengut, stellte die Arbeitsgruppe im weiteren klinischen Verlauf bei insgesamt nur 4 Prozent eine extralaryngeale Dissemination der Erkrankung fest. Dieser im Vergleich zu anderen in der Fachliteratur beschriebenen Fällen geringe Prozentsatz erklärten sich Orji et al. (2012) mit der im Mittel nur 3,2 bis 3,5 Monate dauernden, kurzen Verweildauer des Tracheostomas. Im Vergleich beschrieb Soldatski et al. (2005) eine Rate an Disseminationen der Papillome in die unteren Atemwege von bis zu 80,4 Prozent nach frühzeitiger Tracheotomie und einer Liegedauer von durchschnittlich 18,4 (+/-16,9) Monaten. Orji et al. (2012) verzeichneten bereits sieben Wochen nach Tracheotomie die beginnende laryngeale Sekretion der HPV Viren durch die Drainage in Richtung der unteren Atemwege. Aus diesem Grund sollte die Verweildauer des Tracheostomas so kurz wie möglich gehalten werden (Orji et al., 2012).

Selbst wenn die medikamentösen, als auch chirurgischen Therapieoptionen maximal ausgereizt werden, gilt der Befall der Lunge als Ausschlag gebend für den letalen Ausgang der Erkrankung (Silver et al., 2003).

In mehr als den bisher angenommenen 2-3% der Fälle entarten respiratorische Papillome maligne (Lie et al., 1994). Lie et al. (1994) führten als wichtigen Kofaktor den Nikotinabusus, Alkoholismus sowie die Tracheotomie an.

## **1.8. Diagnostik**

Goldstandard in der Diagnostik der RRP stellt die Laryngoskopie dar. Diese erfolgt zur Sicherung der initialen Verdachtsdiagnose durch starre oder flexible Endoskopie. Im Rahmen der Untersuchung können so in einem Zug Veränderungen fotografisch dokumentiert, Material für eine Biopsie gewonnen und die Ausbreitung und Schwere der Erkrankung evaluiert werden.

In manchen Fällen stellt eine weiterführende Diagnostik mithilfe einer Computer- oder Magnetresonanztomographie eine sinnvolle Ergänzung dar.

## **1.9. Therapie**

Betrachtet man die kurzfristige, therapeutische Zielsetzung in Bezug auf die Behandlung der RRP wird klar, dass diese vor allem auf eine nachhaltige Verbesserung der Lebensqualität abzielt. Diese umfasst die Optimierung der Sprachqualität, eine Reduktion der Klinikaufenthalte und notwendigen operativen Eingriffe sowie eine Verringerung der Papillomausbreitung.

Diese Ziele reihen sich in ihrer Dringlichkeit direkt hinter der Sicherung der Atemwege sowie den Erhalt der Funktionalität vorhandener Strukturen. Die Elimination des Virus und die Heilung entsprechen ebenso den langfristigen therapeutischen Zielen (Derkay & Wiatrak, 2008) wie die Primärprophylaxe der Erkrankung durch eine flächendeckende Impfung beider Geschlechter gegen das HPV-Virus durch den 9-valenten Impfstoff Gardasil9® vor Beginn erster sexueller Aktivitäten.

In zwanzig Prozent der Fälle werden Patienten mit RRP zusätzlich adjuvant behandelt. Die Notwendigkeit einer adjuvanten Therapie ist laut Derkay und Blucher (2019) ab einer Rate von mehr als vier operativen Eingriffen pro Jahr, einem kurzen Rezidivintervall mit begleitender Verlegung der Atemwege oder der multi-zentrischen, distalen Dissemination der Erkrankung gegeben.

### **1.9.1. Operative Techniken**

Der chirurgische Goldstandard besteht in der aggressiven Ablation der papillomatösen Veränderungen im Rahmen einer Stützlaryngoskopie beziehungsweise Mikrolaryngoskopie nach Kleinsasser. Der Operateur schont hierbei so gut wie möglich angrenzende, vitale Strukturen, um Komplikationen wie beispielsweise Segelbildung, Dysphonie oder Keloidbildungen zu reduzieren (Derkay & Wiatrak, 2008). Letztere können auf Dauer - gerade in Kombination mit erneuten, massiven Rezidivpapillomen - zu einer vollständigen Verlegung der oberen Atemwege führen, die als Ultima Ratio eine Tracheotomie notwendig macht.

Wurden früher so genannte kalte chirurgische Techniken bevorzugt, finden heutzutage Laser eine verbreitete Anwendung. CO<sub>2</sub>-Laser oder 585-nm-Pulsed-dye-Laser (585-nm-PDL) seien darüber hinaus der mechanisch instrumentellen Ablation gerade bei gestielten Papillomen überlegen - vor allem in der operativen Therapie der juvenilen RRP (Gallagher & Derkay, 2008). Dies erklären sich Hartnick et al. (2007) damit, dass der 585-nm-PDL Schäden an gesundem, angrenzendem Epithel vermindert, auch schwer zugängliche Stellen erreicht und letztlich der postoperative Behandlungserfolg in Bezug auf die Stimmqualität verbessert, indem Verletzungen mit nachfolgender Vernarbung der vorderen Kommissur und der Stimmlippen vermieden werden. Aber auch andere Laser-Formen kommen heutzutage in der operativen Therapie der RRP zum Einsatz, darunter der Potassium-Titanyl-Phosphat-Laser (KTP-Laser), Argon-Laser, Flash-pump-Farbstofflaser oder Nd:YAG-Laser.

Seit rund fünfzehn Jahren werden anstelle des Lasers ebenfalls „Shaver“ oder laryngeale „Microdebrider“ standardmäßig eingesetzt. Die Vorteile dieser Technik liegen in der Anwendungssicherheit, Reduktion thermischer Schäden im Vergleich zur Laseranwendung, verkürzter Operationszeit bei geringerem Personaleinsatz, einer Reduktion des Risikos für das OP-Personal den durch den Laser verursachten Rauch zu inhalieren und die qualitative Verbesserung der Sprache und Verringerung der postoperativen Schmerzen bei gleichzeitiger Senkung der

Behandlungskosten (Hartnick et al., 2007; Patel et al., 2003; Schraff et al., 2004). Weiterhin sind „Microdebrider“ vorne gebogen, um verborgene Strukturen zugänglich und chirurgisch erreichbar zu machen - im Gegensatz zu einem Laser, dessen Strahl nur auf lineare vor ihm befindliche Areale direkt fokussieren kann. Ein weiterer Vorteil des „Microdebridors“ gegenüber des Lasereinsatzes stellt die unmittelbare Absaugung des Papillomgewebes während der Abtragung dar. Somit wird vermieden, dass vaporisierte HPV-Viren verschleppt werden oder gar in die umliegende Raumluft gelangen. Yang QW et al. (2017) beobachteten 49 Patienten über einen Zeitraum von im Mittel 99 Monaten und kamen zu dem Schluss, dass eine kombinierte operative Vorgehensweise mithilfe eines Lasers und eines „Microdebridors“ am effektivsten im Hinblick auf die Vermeidung von Langzeitkomplikationen und den Erhalt der Lebensqualität sei.

Hartnick et. al. (2007) empfehlen differenzierte, operative Techniken und Adjuvantien in spezifischem Hinblick auf die Lokalisation der Papillome und listen diese absteigend nach ihrem Empfehlungsgrad auf:

**Tabelle 2: Empfohlene, operative Technik nach Lokalisation der Papillome**

Lokalisation der Papillome	Empfohlene OP-Technik	
Supraglottis Areal	Microdebrider Kalte Instrumente	CO2-Laser +/- Cidofovir
Glottisches Areal	Microdebrider Kalte Instrumente 585-nm-PDL	CO2-Laser +/- Cidofovir
Subglottisches Areal	Microdebrider 585-nm-PDL	CO2 Laser KTP Laser

*Tabelle 2: Empfohlene operative und adjuvante Therapie in Hinsicht auf die Lokalisation der RRP nach Hartnick et al. (2007)*

### **1.9.2. Interferon Alpha & Pegyliertes Interferon**

Interferone sind Proteine und werden als natürliche Antwort des Körpers auf verschiedene Stimuli gebildet, unter anderem bei viralen Infektionen (Carifi et al., 2015). Sie gehören zur Familie der Glykoproteine, die allen voran eine antivirale, antiproliferative und immunmodulierende Wirkung entfalten. Diese kommt indirekt über eine Bindung an Membranrezeptoren mit Induktion von über zwei Dutzend Effektorproteinen zum Tragen. Des Weiteren verstärkt sich die antivirale Aktivität von Interferonen durch komplexe Interaktionen zwischen den Interferonen selbst und anderen Komponenten des Immunsystems, welche letztlich die Reaktion des Wirts gegenüber der Infektion an sich modifizieren (Kimberlin, 2004).

Bei Interferon Alpha handelt es sich um das erste systemische, adjuvante Medikament, welches in der Therapie der RRP zum Einsatz kam. Der genaue Wirkmechanismus in Bezug auf die RRP ist nach wie vor unklar und eine alleinige Gabe ohne weitere adjuvante Therapie zeigt keinen kurativen Effekt. Lediglich pädiatrische Patienten profitieren von der adjuvanten Gabe (Carifi et al., 2015). Denn die Medikation zeigt vor allem anfänglich systemisch-toxische Nebenwirkungen, die sich mit anhaltender Therapiedauer abschwächen können: grippeähnliche Symptome kombiniert mit Fieber, Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen und gastrointestinale Beschwerden (Renault & Hoofnagle, 1989). McDonald et al. (1987) zeigten des Weiteren schwerwiegende, anhaltende, unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf: neuropsychiatrische Komplikationen sowie Knochenmarksuppression gefolgt von Neutropenie, Thrombozytopenie und einem Anstieg der Serumtransaminasen (Carifi et al., 2015). Weitere unerwünschte Arzneimittelwirkungen und deren Häufigkeit finden sich in Tabelle 3:

**Tabelle 3: Unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen von Interferon Alpha 2A**

Häufigkeit	Unerwünschte Nebenwirkungen
sehr häufig $\geq 1/10$	Leukopenie, Anorexie, Übelkeit, geringfügige Hypokalzämie, Kopfschmerzen
häufig $\geq 1/100$ bis $< 1/10$	Thrombozytopenie, Anämie, Dysgeusie
gelegentlich $\geq 1/100$ bis $< 1/10$	Dehydration, gestörter Elektrolythaushalt, Depression, Angst, wechselnde Gemütslage, Verwirrtheit, abnormales Verhalten, Nervosität, Gedächtnisstörungen, Schlafstörungen, Neuropathie, Benommenheit, Hypästhesie, Parästhesie, Tremor, Somnolenz, Sehstörungen, Konjunktivitis
selten $\geq 1/10.000$ bis $< 1/1.000$	Pneumonie, Herpes simplex, Agranulozytose, hämolytische Anämie, Autoimmunerkrankungen, akute Überempfindlichkeitsreaktionen, Hypothyreoidismus, Hyperthyreoidismus, Funktionsstörung der Schilddrüse, Diabetes mellitus, Hyperglykämie, Selbstmord, Selbstmordversuch, Selbstmordgedanken, Manie, Koma, cerebrovaskuläre Ereignisse, Konvulsionen, vorübergehende erektile Dysfunktion, ischämische Retinopathie
sehr selten $< 1/10.000$	idiopathische thrombozytopenische Purpura, Sarkoidose, Hypertriglyzeridämie, Hyperlipidämie, Enzephalopathie, retinaler Arterienverschluss, Optikusneuropathie, Netzhautblutungen, retinaler Venenverschluss, Netzhautexsudat, Retinopathie, Papillenödem

*Tabelle 3: Unerwünschte Arzneimittelwirkung von Interferon Alpha 2A (Roferon A®), Fachinfo Rote Liste, Stand Juni 2018*

Zudem zeigt sich die letztendliche Wirksamkeit abhängig vom vorliegenden HPV Typ: Bei einer RRP ausgelöst durch HPV Typ 11 sind beispielsweise langfristig Therapieversagen oder Rückfälle häufiger. Auch spricht der HPV Typ 6 im 20-Jahres Beobachtungszeitraum mit 64% deutlich besser auf eine Interferon-Behandlung an als der HPV Typ 11 mit lediglich 14% (Gerein et al., 2005).

Aktuell wird das weiter entwickelte, pegylierte Interferon (PEG-IFN) in Einzelfällen als Adjuvanz getestet, das hauptsächlich in der antiviralen Therapie der Hepatitis C Anwendung fand. PEG-IFN sei laut Maunsell und Bellomo-Brandão (2017) deutlich effektiver in der Behandlung der RRP als Interferon Alpha.

### 1.9.3. Cidofovir

Cidofovir erhielt 1997 in den USA die Zulassung zur intravenösen Behandlung der Cytomegalie bedingten Retinitis bei adulten Patienten mit AIDS-Syndrom ohne renale Dysfunktion. Bei dem Wirkstoff handelt es sich um einen Inhibitor spezifischer DNS-Polymerasen, der so die Replikation des Virus unterdrückt. Im Januar 2011 wies die Firma Gilead für Vistide®, (Cidofovir Fertigarzneimittel zur i.v. Anwendung) in einem Rote-Hand-Brief auf nephrotoxische Effekte als schwerwiegende Nebenwirkung hin. Vorgegangen war eine stark zunehmende Off-Label-Anwendung des Arzneimittels. Das weitere Nebenwirkungsprofil des Medikaments umfasst bei systemischer Gabe die in Tabelle 4 aufgeführten Wirkungen:

**Tabelle 4: Unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen von Cidofovir (Vistide®)**

Häufigkeit	Unerwünschte Nebenwirkungen
sehr häufig $\geq 1/10$	Neutropenie, Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Alopezie, Ausschlag, Proteinurie, Kreatinin-Anstieg, Asthenie, Fieber
häufig $\geq 1/100$ bis $< 1/10$	Iritis, Uveitis, erniedrigter Augeninnendruck, Dyspnoe, Diarrhoe, Nierenversagen, Schüttelfrost
gelegentlich $\geq 1/100$ bis $< 1/10$	Erworbenes Fanconi-Syndrom

*Tabelle 4: Unerwünschte Arzneimittelwirkung von Cidofovir (Vistide®), Fachinfo der Europäischen Arzneimittelbehörde (EMA), Stand Januar 2015*

Auch in der adjuvanten Therapie der RRP kommt Cidofovir verstärkt, jedoch zum lokalen, intraläsional verabreichten Off-Label-Einsatz. Es zeigt bei knapp zwei

Dritteln der betroffenen Patienten eine positive Wirkung mit deutlicher Verlängerung der Rezidivfreien Intervalle (Schraff et al., 2004).

Der exakte Wirkmechanismus in Bezug auf die RRP ist noch unklar. Eine starke in-vivo und in-vitro Aktivität von Cidofovir gegen diverse Viren, darunter Herpes-Typ 1 und 2, Adeno-, Varizella-Zoster-, Polyoma- sowie HPV-Viren wurde jedoch bereits beschrieben (Kimberlin, 2004).

Der zum Teil bemerkenswerte Nutzen einer lokalen Injektion von Cidofovir bei durch HPV ausgelösten Larynxpapillomen bis hin zur kompletten Remission wurde durch mehrere Langzeitbeobachtungen wissenschaftlich untermauert: Pransky et al. (2003) zeigte bei 5 von 11 Kindern, die man über einen mittleren Zeitraum von 51,6 Monaten beobachtete, eine komplette Remission. Die Remission der RRP wurde diesbezüglich definiert als sichtbares Ausbleiben der Erkrankung sowohl in der flexiblen als auch in der direkten, operativen Laryngoskopie (Pransky et al., 2003). Zudem verbesserte sich nach der intraläsionalen Anwendung subjektiv die Stimme bei nicht nachweisbaren lokalen, systemischen oder karzinogenen Nebenwirkungen (Pransky et al., 2003; Pudszuhn et al., 2006). Tanna et al. (2008) analysierten den weiteren Krankheitsverlauf 13 erwachsener Patienten nach mehrmaliger, lokal infiltrierender Therapie mit Cidofovir in einem 10-Jahres-Follow-Up: 6 Patienten wiesen demnach eine komplette Remission auf. Auch Chadha und James (2012) zeigten in einem systematischen Cochrane-Review der vorausgegangenen 10 Jahre den Nutzen der Behandlung mit Cidofovir: Sie beschrieben eine Rate vollständiger Remissionen in Höhe von 57% und eine Rate teilweiser Remission in Höhe von 35% bei mit Cidofovir intraläsional behandelten Patienten.

#### **1.9.4. Cyclooxygenase Typ 2 Inhibitoren**

Vambutas et al. (1993) zeigten bereits auf, dass die Expressionsrate des Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in infizierten, papillomatös veränderten Arealen deutlich die EGFR-Rate in normaler Mukosa übersteigt. Über die Phos-

phatidylinositol 3 Kinase Enzymkaskade verstärkt EGFR die Expression der Cyclooxygenase Typ 2 (COX-2) und diese wiederum die Prostaglandin E2 (PGE2) Synthese. Letztere führt nachfolgend zu einem gesteigerten Wachstum von Papillomen in vivo (Vambutas et al., 1993).

Ein Cyclooxygenase Typ 2 Hemmer wie beispielsweise der Wirkstoff Celecoxib (Handelsname Cerebrex®) zählt zu den nichtsteroidalen, anti-inflammatorischen Arzneimitteln und stellt somit eine therapeutische Möglichkeit dar, medikamentös in genau diese Signalkaskade einzugreifen. Celecoxib induziert hierbei in betroffenen Zellen die Apoptose, indem es selektiv in die PGE2 Synthese eingreift (Wu et al., 2005). Limsukon et al. (2009) behandelten einen 58-jährigen Patienten mit RRP mit Erfolg mithilfe einer Kombination aus den Wirkstoffen Celecoxib und Erlotinib. Der Tyrosinkinase-Inhibitor Erlotinib (Handelsname Tarceva®) stellt wiederum einen Hemmstoff des humanen EGFR dar und sollte die alleinige Wirkung von Celecoxib verstärken. Limsukon et al. (2009) berichteten von verlängerten Rezidivfreien Intervallen sowie visuell eruiertes Verringerung der Ausbreitung der RRP. Aktuell fehlen jedoch umfangreichere Studien über den Einsatz sowohl von Celecoxib als auch Erlotinib in Bezug auf die Therapie der RRP.

#### **1.9.5. Indol-3-carbinol**

Indol-3-carbinol ist ein biologischer Bestandteil von Blumenkohl, Brokkoli und Kohlsorten. Newfield et al. (1993) zeigten in ihren Untersuchungen des Östrogenmetabolismus in HPV geschädigter Larynx-Mucosa von Mäusen, dass in betroffener Schleimhaut gehäuft 16-alpha-Hydroxyöstrogen aus Estradiol gebildet wird. 16-alpha-Hydroxyöstrogen fördert wiederum das Wachstum der Papillome. Durch die Zufuhr von Indol-3-carbinol wird hingegen 2-alpha-Hydroxyöstrogen gebildet. Letztes inhibiert das Wachstum der Papillome. Den beobachteten Effekt machten sich Rosen und Bryson (2004) zu Nutze und verabreichten ihren Patienten synthetisches Indol-3-carbinol in einer Dosierung von 200 mg. In der prospektiven Studie kam es in mehr als einem Drittel der Fälle zur teilweisen bis vollständigen Remission. Patienten mit adulter RRP zeigten dabei ein besseres Ansprechen auf die Substanz als pädiatrische Patienten.

### **1.9.6. Antazida**

Ein laryngo-ösophagealer Reflux stellt einen bedeutenden, verstärkenden Cofaktor der RRP dar. Die Irritation der epithelialen Mucosa des Aerodigestivtrakts bedingt eine Schädigung der laryngealen Schleimhaut oder aber sie löst eine inflammatorische Reaktion aus, die ihrerseits wiederum das Krankheitsbild intensiviert. Aus diesem Grund ist eine effektive Behandlung eines bestehenden gastroösophagealen Reflux entscheidend für den Therapieerfolg der RRP. Teils führt die Beseitigung des Refluxes sogar zur vollständigen Remission der papillomatösen Veränderungen. In diesem Zusammenhang scheint vor allem das H<sub>2</sub>-Antihistaminikum Cimetidin (Markenname Cimetidin acis®) eine wichtige Rolle zu spielen (Harcourt et al., 1999; McKenna & Brodsky, 2005).

### **1.9.7. Bevacizumab**

Bevacizumab (Handelsname Avastin®) ist ein rekombinanter, humaner, monoklonaler G1 Antikörper, der zuerst in der Therapie des metastasierten Colon-Karzinoms, mittlerweile bei einer Vielzahl diverser Neoplasien zur Anwendung kommt. Bevacizumab bindet an den Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) und verhindert so dessen Aktivierung. Da die Überexpression von EGFR einen entscheidenden Faktor in der Pathogenese der RRP darzustellen scheint, stellt die mit 45-50 mg dosierte, intraläsional injizierte Applikation von Bevacizumab einen vielversprechenden adjuvanten Therapieansatz dar (Carifi et al., 2015). Die Anwendung von Avastin® verlängere sowohl die Rezidivfreien Intervalle, reduziere die Häufigkeit der Eingriffe an sich und führe ebenso zu einer Verbesserung der Stimmqualität (Best et al., 2012).

Als unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen des Medikaments bei systemischer, intravenöser Anwendung werden Hypertension, Thrombosen, Elektrolytverschiebungen sowie renale Schäden beschrieben (Derkey & Bluher, 2019).

### **1.9.8. Photodynamische Therapie (PDT)**

Bei der Photodynamischen Therapie (PDT) wird ein photosensitiver Wirkstoff in das von HPV befallene Areal injiziert. Die geschädigten oder neoplastischen Zellen reichern diesen dann selektiv an. Anschließend wird das Agens durch einen Rotlicht-Laser aktiviert und interagiert mit dem molekularen Sauerstoff der Zellen. Dadurch entstehen eine direkte, zytotoxische Wirkung und eine mikrovaskuläre Schädigung proliferierender, HPV-infizierter Zellen. Optisch ist dies durch eine Schwellung und demnach anfallendes, nekrotisches Gewebe zu erkennen. Nebenwirkungen zeigen sich vorrangig durch die anhaltende Lichtempfindlichkeit der betroffenen Hautareale der Patienten. Bisher hielt die PDT hauptsächlich Einzug in der Behandlung von Lungen-Karzinomen, Ösophagus-Karzinomen oder des Barrett Ösophagus. Da jedoch die auszuwertende Studienlage in Bezug auf die RRP überaus gering ist, bleibt der Einsatz und die Wirkung aktuell kontrovers (Carifi et al., 2015).

### **1.10. Schutzimpfung gegen HPV-Infektionen**

Ein immunologischer Ansatz mittels Vakzine bietet in der Behandlung und Prävention der RRP in mehreren Hinsichten eine überaus hoffnungsvolle Perspektive: einerseits in der Primärprävention der Erkrankung; andererseits als fester Bestandteil eines adjuvanten Behandlungsschemas mit geringem Risiko in der Tertiärprävention von Rezidiven sowie der Verlängerung des Rezidivfreien Intervalls durch Verbesserung der immunologischen Kompetenz der Patienten.

Der HPV-Impfstoff wurde als Impfstoff mit Virus ähnlichen Partikeln (virus-like particles, kurz VLP) entwickelt. Ein VLP-Impfstoff präsentiert hoch repetitive, virale antigene Epitope in der korrekten Konformation an seiner Oberfläche, welche wiederum eine starke, sowohl durch CD4<sup>+</sup>-T-Helferzellen wie auch B-Zellen vermittelte Immunantwort hervorrufen. Damit stimuliert der VLP-Impfstoff Gardasil® bzw. Gardasil9® sowohl die angeborene als auch erworbene Immunität der

Geimpften. VLP-Impfstoffe sind des Weiteren nicht infektiös, enthalten kein genetisches Virus-Material und stellen somit eine sichere Alternative zu Impfstoffen mit abgeschwächten Viren dar.

Die Zulassung des Impfstoffs bezieht sich aktuell bei allen Präparaten auf die präventive Anwendung gegen HPV-assoziierte präkanzeröse und warzenartige Läsionen der Vagina, Vulva und Zervix sowie des Analbereichs. In der Behandlung von Patienten mit RRP handelt es sich bei der Impfung um eine Off-label-Anwendung. Aktuell sind drei Impfstoffe zugelassen, wobei jedoch hauptsächlich zwei davon in den vergangenen Jahren zur Anwendung kamen. Der jüngst zugelassene Impfstoff Gardasil9® beinhaltet nunmehr 9 HPV-Typen und stellt laut Derkey und Bluher (2019) eine große Hoffnung in der Reduktion der Inzidenz der RRP durch Prävention der Transmission der Viren auf Kinder dar.

Folgende Impfstoffe sind zurzeit (Stand 3/2021) zugelassen:

**Tabelle 5: Aktuell zugelassene Impfstoffe gegen Humane Papillomaviren**

Handelsname	Firma	Spezifisch für HPV Typ	Zulassung erteilt
Cervarix®	GlaxoSmithKline	16, 18	20.09.2007
Gardasil®	MSD Vaccins	6, 11, 16, 18	20.09.2006
Gardasil 9®	MSD Vaccins	6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58	10.06.2015

*Tabelle 5: Aktuell zugelassene Impfstoffe zur Behandlung von HPV-Infektionen der Vagina, Vulva, Zervix und Analbereichs, (Stand 3/2021), Quelle: Paul-Ehrlich-Institut*

Bei dem in dieser Arbeit vorliegenden Patientenkollektiv verwendeten Impfstoff handelt es sich bis 2016 um den quadrivalenten Impfstoff Gardasil® der Firma MSD Vaccins, welcher seit 2016 deutschlandweit und in der Behandlung der untersuchten Patienten sukzessive durch den 9-valenten Impfstoff Gardasil 9® ersetzt wurde.

Die Impfpfempfehlung der ständigen Impfkommission des Robert-Koch-Instituts (StiKo) besteht derzeit für Kinder im Alter von neun bis einschließlich 13 Jahren nach einem bimodalen Impfschema im Abstand von sechs Monaten. Bei Personen über 14 Jahren oder bei Gabe der zweiten Dosis in einem kürzen Intervall als sechs Monaten empfiehlt die StiKo ein Drei-Dosis-Schema mit dem Abstand von 0, 2 und 6 Monaten binnen eines Jahres. Die zweite Impfung sollte allerdings immer als frühesten Zeitpunkt einen Monat nach der ersten erfolgen. Die dritte Impfung wird mit frühestem Zeitpunkt drei Monate nach der zweiten empfohlen.

Die Impfpfempfehlung wurde im Juni 2018 von der StiKo von Mädchen auch auf Jungen ausgeweitet, um unter anderem die Übertragung des HPV-Virus einzudämmen. Dies erfolgte nach Auswertung von 26 Studien an 73.428 Mädchen und Frauen zur Impfsicherheit (Arbyn et al., 2018), welche die gute Verträglichkeit der Impfung bei geringen Nebenwirkungen bestätigte. Tabelle 6 zeigt die möglichen, bereits bekannten Nebenwirkungen von Gardasil® und Gardasil 9® auf:

**Tabelle 6: Unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen von Gardasil®/Gardasil9®**

Unerwünschte Nebenwirkungen		
Häufigkeit	An der Injektionsstelle	Systemisch
sehr häufig ≥ 1/10	Erythem, Schmerz, Schwellung	Kopfschmerzen
häufig ≥ 1/100 bis < 1/10	Hämatom, Pruritus, Schmerzen in der Extremität	Übelkeit, Fieber
selten ≥ 1/1.000 bis < 1/100		Urtikaria
sehr selten ≥ 1/10.000 bis < 1/1.000		Bronchospasmus

*Tabelle 6: Unerwünschte Arzneimittelwirkungen von Gardasil® und Gardasil 9®,  
Quelle: FachInfoService (Stand 7/2018)*

Bereits in Einzelfällen wurde in den vergangenen Jahren in der Literatur der Vorteil einer Immunisierung von Patienten mit RRP mittels Gardasil® beschrieben (Mudry et al., 2011) - beispielsweise bei einem zweijährigen Jungen mit JORRP durch Förster et al. (2008). Dabei zeigten die Kasuistiken ein geringes Risiko systemischer oder gar toxischer Nebenwirkungen gegenüber der medikamentösen Behandlung mit Interferon alpha bei deutlicher Verlängerung der Rezidivfreien Intervalle.

Pawlita und Gissmann (2009) diskutierten die RRP als „*Indikation für eine therapeutische HPV-Impfung mit einem prophylaktischen HPV-Impfstoff*“. Gerade aus diesem Grund wäre eine Publikation mit größerer Fallzahl von erheblichem Informationsgewinn für die weitere therapeutische Gestaltung der Behandlung der RRP in Bezug auf eine präventive HPV-Impfung.

Mauz et al. (2018) beschrieben ihre positiven, therapeutischen Erfahrungen mit der adjuvanten Impfung mittels Gardasil®: 13 der 24 von ihnen behandelten Patienten waren therapiebegleitend mit dem HPV-Impfstoff geimpft worden und entwickelten im mittleren Nachbeobachtungszeitraum von 54,9 Monaten in nur 2 von 13 Fällen (15,4%) ein Rezidiv, wohingegen alle 11 nicht geimpften Patienten spätestens nach im Mittel 12,3 Monaten erneut papillomatöse Veränderungen aufwiesen.

Im Juni 2018 fiel im Rahmen der erweiterten Indikationsstellung zur Schutzimpfung gegen HPV von Mädchen und nun auch Jungen ein entscheidender Beitrag zur Prävention der Erkrankung.

## 1.11. Zielsetzung der Arbeit

Die rezidivierend respiratorische Papillomatose stellt für Betroffene eine hochgradig eingreifende Diagnose dar. Wiederholte Operationen, Stimm- und Sprechschwierigkeiten sowie regelmäßig wiederkehrende Hospitalisierung beeinträchtigen in hohem Ausmaß die Lebensqualität. Bislang wurde Patienten an der Hals-Nasen-Ohrenklinik des Universitätsklinikums Tübingen als individueller Heilversuch eine Kombination aus der schonenden Ablation der warzenartigen Veränderungen mittels „Microdebrider“ sowie der lokalen, intraläsionalen Gabe von Cidofovir mit adjuvanter Off-label Impfung mit Gardasil bzw. Gardasil 9® angeboten.

Doch nach wie vor gibt es keinen einheitlichen Therapiestandard in der Behandlung der rezidivierenden respiratorischen Papillomatose. Aus diesem Grund umfasst das in dieser Dissertation beschriebene Patientenkollektiv einen vergleichbar großen Umfang gegenüber dem bisher untersuchten Patientengut in der medizinischen Fachliteratur.

Gerade im Hinblick auf die adjuvante Schutzimpfung der Patienten mittels Gardasil® und Gardasil 9® zeigt sich eine weitreichende, therapeutische Perspektive. Waren bisher in der wissenschaftlichen Literatur nur Einzelfallstudien zur Impfung beschrieben, ermöglicht das Gros der vorliegenden Patienten eine detailliertere Aussage zur adjuvanten Wirkung der Vakzine im bisherigen Therapieschema.

Im Zuge oben genannten Behandlungsangebotes der RRP werden im Rahmen der klinischen Standarddiagnostik und Diagnosesicherung vor Beginn der operativen Therapie sowie wiederholt im Verlauf der Behandlung serologische Blutproben betroffener Patientinnen und Patienten gewonnen. Diese sollen nun retrospektiv in pseudonymisierter Form untersucht werden.

Studienziele der retrospektiven, pseudonymisierten Untersuchung sind die Evaluation des Status neutralisierender Antikörper gegenüber bestimmter HPV-Virus-Typen vor Beginn der Therapie sowie die maximalen Titer neutralisierender Antikörper nach Abschluss der Impfserie. Weiterhin werden demgegenüber die Anzahl an Patienten mit Rezidiven nach Abschluss der Impftherapie in Verbindung gebracht, um eine Aussage der Wirkung der Vakzine als adjuvante Therapieform treffen zu können.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Votum der Ethikkommission**

Die vorliegende retrospektive Untersuchung gemäß §15 der Berufsordnung für Ärzte in Baden-Württemberg steht im Einklang mit der Deklaration von Helsinki und wurde nach den allgemeinen Empfehlungen für „Good clinical practice“ durchgeführt. Ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen wurde vor Durchführung der Untersuchungen und Erhebung der Daten eingeholt. Von Seiten der Kommission bestehen laut Schreiben vom 25.04.2018 unter dem Aktenzeichen 163/2018BO1 keine Bedenken zur Durchführung einer retrospektiven Auswertung vorhandener Daten.

### **2.2. Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs**

#### **2.2.1. Einschlusskriterien**

Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv wurden alle Patienten eingeschlossen (n = 17 männlich; n = 12 weiblich), die im Zeitraum zwischen 2007 und 2020 an der Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde in Tübingen mit der pathologisch gesicherten und bestätigten Diagnose einer rezidivierenden respiratorischen Papillomatose (RRP) mit positivem Nachweis einer zugrunde liegenden Infektion mit dem Humanen Papilloma Virus (HPV) behandelt wurden. Eingeschlossen wurden sowohl Patienten mit juveniler RRP als auch adulter Form.

#### **2.2.2. Ausschlusskriterien**

Als Ausschlusskriterien galten eine mangelnde rechtliche Einwilligungsfähigkeit in die Durchführung der Behandlung, ein Versagen der Einwilligung in die wissenschaftliche Erhebung der Daten sowie eine bereits vor dem Behandlungsbeginn bestehende Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil 9®.

In die endgültige Auswertung wurden nur die Patienten eingeschlossen, welche neben der chirurgischen Therapie die vollständige Immunisierung mittels drei

Impfdosen Gardasil® bzw. Gardasil 9® erhielten. Patienten, die vorzeitig auf eigenen Wunsch hin das Impfschema beendeten oder nur zwei Impfdosen in nicht den Empfehlungen entsprechenden, inadäquaten zeitlichen Abständen erhielten, wurden ebenfalls ausgeschlossen. In die endgültige Auswertung wurden somit nur Patienten eingeschlossen, welche eine vollständige Immunisierung mittels drei Impfdosen Gardasil® bzw. Gardasil 9® vorweisen konnten und von denen das exakt dokumentierte Datum der Impfungen vorlag.

### **2.2.3. Zusammensetzung des Gesamtkollektivs**

Insgesamt ergaben sich nach diesen Kriterien  $n = 29$  Patienten für den primären Endpunkt einer retrospektiven, serologischen Antikörperanalyse von Serumproben im Rahmen der Standarddiagnostik der rezidivierenden respiratorischen Papillomatose hinsichtlich des Antikörperstatus auf das Humane Papilloma Virus.

Mit dem vorliegenden Einverständnis der  $n = 29$  Patienten wurden wiederum im Rahmen der routinemäßigen Standarddiagnostik vor der Behandlung sowie in deren Verlauf serologische Blutproben entnommen. Alle in Frage kommenden Patienten willigten schriftlich nach ausführlicher Aufklärung in die wissenschaftliche Verwendung der serologischen Proben ein. Des Weiteren wurden alle Patienten ausführlich über die Off-Label Anwendung der Vakzine sowie über deren Nebenwirkungsspektrum aufgeklärt.

## **2.3. Datenerhebung**

Für die Datenerhebung der Patientencharakteristika wurden eingescannte, handschriftliche Anamnese- und Sprechstundenbögen sowie digitale Befund- und OP-Berichte der Patienten herangezogen. Berichte externer Kliniken und Vorbefunde konnten in Form von Scans einbezogen werden. Sämtliche einbezogene Quellen befinden sich im digitalen Aktenarchiv des Universitätsklinikums für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde in Tübingen.

Folgende Patientendaten wurden daraus extrahiert:

- Diagnose einer RRP
- Geschlecht
- Datum der Erstdiagnose der RRP
- Alter bei der Erstdiagnose der RRP
- Lokalisation der Erkrankung
- Histologische und virologische Befunde
- Datum des ersten operativen Eingriffs sowie der Folgeeingriffe
- Operationsmethode der operativen Eingriffe
- Daten der Impfungen mit Gardasil® oder Gardasil 9®
- Adjuvante Therapie in Form intraläsionaler Cidofovir-Injektionen
- Datum des letzten Nachbeobachtungstermins

Im Rahmen der standardisierten Routinediagnostik und Therapie der RRP wurden jedem Patienten Blutproben entnommen und in einem speziell für serologisches Probenmaterial geeigneten Gefrierschrank eingelagert. Anschließend wurden die Blutproben gesichtet, sortiert und pseudonymisiert.

Die oben aufgeführten Daten sowie die jeweiligen Zeitpunkte der Blutentnahmen wurden von mir manuell nach vorangegangener Vergabe einer eindeutigen, anonymen, alphanumerischen Identifikationsnummer in eine Excel Tabelle eingegeben. Anschließend wurde die Excel Datenbank mit den Ergebnissen der Auswertung der Serumdaten verknüpft, die vorab am DKFZ durch Herrn Dr. Michael Pawlita im Rahmen der „High-Throughput Pseudovirion-based Neutralization Assay“ (HT-PBNA) erstellt wurde. Herr Dr. Michael Pawlita stellte ebenfalls in Form einer Excel Tabelle folgende Ergebnisse zur Verfügung:

- ED50-Werte neutralisierender Antikörper gegenüber den HPV Typen 6,16, 18, 31, 33, 45, 58
- Höhe der neutralisierenden Antikörper gegenüber den HPV Typen 16 und 18 in IU/ml

## 2.4. Analyse der Patientenserien durch HT-PBNA

Unter Mitarbeit des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) in Heidelberg wurden die serologischen Proben zentrifugiert, der Überstand pipettiert und anschließend in Heidelberg hinsichtlich des Antikörperstatus der einzelnen HPV-Typen HPV6, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV45 sowie HPV58 vor der Impfung im Vergleich zum Zeitpunkt nach jeder Impfung differenziert analysiert. Hierbei wurde das neuartige Analyseverfahren „High-Throughput Pseudovirion-based Neutralization Assay (HT-PBNA)“ zur Messung neutralisierender Antikörper gegen das L1 Hauptkapsidprotein des humanen Papillomavirus angewendet, welches nach Sehr et al. (2013) eine wesentlich höhere Sensitivität als das bisher angewendete Nachweisverfahren durch den „manual Pseudovirion-based Neutralization Assay (manPBNA)“ für das Humane Papillomaviren aufweist. Die nachgewiesenen Antikörpertiter des HT-PBNA fallen dementsprechend generell höher aus als beim manPBNA (Sehr et al., 2013). Sehr et al. (2013) vermuten, dass die durch das HT-PBNA gemessenen neutralisierenden Antikörper gegen das HPV - L1 Hauptkapsidprotein den Schlüssel darstellen, durch welchen die Impfung ihre protektive Wirkung gegen ein erneutes Auftreten HPV basierter Erkrankungen entfaltet. Da es sich bei den gesammelten Patientenproben um eingefrorenes Vollblut handelte, sind nach der Auswertung mithilfe des HT-PBNA nur die Titeranstiege der neutralisierenden Antikörper im Verlauf der Impftherapie verwertbar. Bei den Ergebnissen des HT-PBNA handelt es sich um die Angabe der mittleren, effektiven Dosis (ED50), wobei ein gemessener ED50-Wert neutralisierender Antikörper kleiner 80 als seronegativ definiert wird (Sehr et al., 2013). Dieser letzte Schritt der Analyse war deutschlandweit, aufgrund der nur im DKFZ vorhandenen Gerätschaften und der Expertise in Bezug auf die molekulare Diagnostik von Virus-Wirt-Wechselwirkungen bei Polyoma- und Papillomaviren, nur in Heidelberg möglich.

## **2.5. Datenbank**

Die Speicherung der pseudonymisierten Daten erfolgt gemäß den Richtlinien für die gute wissenschaftliche Praxis für zehn Jahre in einer pseudonymisierten Excel® (Microsoft Corporation) Datenbank auf den passwortgeschützten Computern der Universitätsklinik Tübingen für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde. Der Zugriff zu der Datei war nur den an der Untersuchung und im Ethikantrag aufgeführten, beteiligten Ärzten gestattet. Die Identifikation der einzelnen Probanden in der Datenbank erfolgte über die Verwendung einer alphanumerischen Verschlüsselung, welche in einer gesonderten passwortgeschützten Datei hinterlegt wurde und die nur dem Studienleiter zugänglich war.

## **2.6. Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung schloss sich der Beratung durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie Tübingen mithilfe der Software Excel (Microsoft Corporation) an. Bereits vor Erhebung und Auswertung der Daten fand eine ausführliche Besprechung statt, in der die zu erhebenden Charakteristika der Patienten aufgrund statistischer Verwertbarkeit geprüft wurden. Da es sich bei der rezidivierenden respiratorischen Papillomatose um eine seltene Erkrankung handelt, wurde ein Umfang von  $n = 29$  Patienten als akzeptabel eingestuft.

Entsprechend der Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie wurden in der Ergebnispräsentation keinerlei Signifikanztest oder p-Werte dargestellt und auf die Darstellung von odds ratio aus multiplen Regressionsmodellen verzichtet, da die Power aufgrund des geringen Stichprobenumfangs für Häufigkeits- oder Mittelwertsvergleiche nicht ausreichend war und die Fallzahl für stabile multiple Regressionsmodelle ebenfalls nicht ausreichte.

Eine weitere statistische Begleitung war über den gesamten Zeitraum der Studie durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie gewährleistet. Ebenfalls fand eine abschließende Begutachtung der erzielten Ergebnisse statt. Die Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Maier (Abbildung 7) wurde durch das Institut für Biometrie mithilfe der Statistik Software SPSS Statistics (IBM) angefertigt.

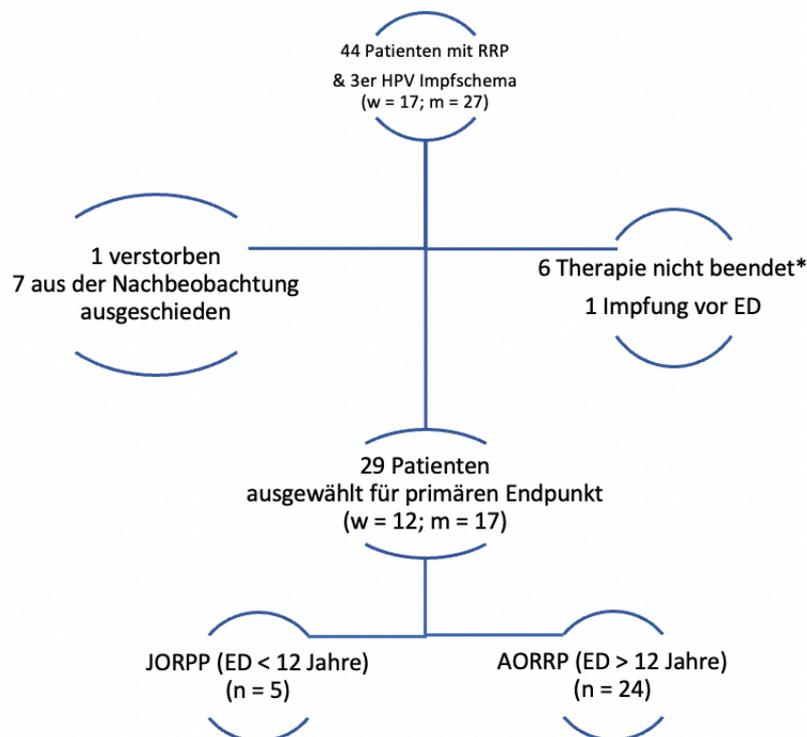
Alle im Ergebnisteil angegebenen Größen wurden quantitativ mithilfe des Maximums (Max), des Minimums (Min), des Mittelwerts und der Standardabweichung (SD) beschrieben. Handelte es sich des Weiteren um eine Angabe der Häufigkeit, wurden diese sowohl in absoluten Zahlen als auch prozentual notiert.

# 3. Ergebnisse

## 3.1. Epidemiologie des Patientenkollektivs

Insgesamt wurden im Zeitraum zwischen 2007 und 2020 n = 44 Patienten (n = 17 weiblich, n = 27 männlich) mit der gesicherten Diagnose einer RRP an der Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Universität Tübingen behandelt.

Abbildung 2: Zusammensetzung des Gesamtkollektivs



\*6x 3er Impfschema nicht abgeschlossen

Abbildung 2: Zusammensetzung des Gesamtkollektivs

n = 29 dieser Patienten kamen wiederum für den primären Endpunkt hinsichtlich der Betrachtung der therapeutischen Auswirkungen einer Immunisierung mit

Gardasil® bzw. Gardasil9® in Betracht. Dabei handelt es sich um n = 12 weibliche sowie n = 17 männliche Patienten. Alle n = 29 ausgewählten Patienten erhielten die vom Hersteller MSD empfohlene, vollständige Immunisierung mittels 3 Impfdosen. n = 5 Patienten waren der juvenilen respiratorischen Papillomatose (JORRP) und n = 24 Patienten der adulten respiratorischen Papillomatose (AORRP) zuzuordnen (siehe Abbildung 2).

### 3.1.1. Alter bei Erstdiagnose des Gesamtkollektivs

Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Erstdiagnose 1 Jahr alt und der älteste 74 Jahre (siehe Tabelle 7).

**Tabelle 7: Altersverteilung bei der Erstdiagnose im Gesamtkollektiv**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Alter in Jahren	Männliche Patienten	Weibliche Patienten	Gesamt
Max	69	74	74
Mittelwert	38,24	38,33	38,28
Min	2	1	1
SD	20,03	26,65	22,55
<b>Patientenzahl</b>	n = 17 (58,6%)	n = 12 (41,4%)	n = 29 (100%)

*Tabelle 7: Altersverteilung in Jahren innerhalb des Patientenkollektivs*

### 3.1.2. Alter bei der Erstdiagnose einer JORRP

n = 5 Patienten des beobachteten Kollektivs waren zum Zeitpunkt der Erstdiagnose jünger als 12 Jahre und erfüllten somit das Alterskriterium einer juvenilen rezidivierenden respiratorischen Papillomatose (JORRP). Der Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde anhand der klinischen Untersuchung im beobachteten Zeitraum gestellt oder anamnestisch erhoben. n = 2 kindliche Patienten waren männlich

(40%), n = 3 weiblich (60%). Der jüngste, männliche Patient war 2 Jahre alt, die jüngste weibliche Patientin 1 Jahr (siehe Tabelle 8).

**Tabelle 8: Altersverteilung bei der Erstdiagnose einer JORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Alter in Jahren	Männliche Patienten	Weibliche Patienten	Gesamt
Max	4	5	5
Mittelwert	3,0	2,3	2,6
Min	1	1	1
SD	1,41	2,31	1,82
<b>Patientenzahl</b>	n = 2 (40%)	n = 3 (60%)	n = 5 (100%)

*Tabelle 8: Altersverteilung in Jahren bei der Erstdiagnose einer JORPP*

### 3.1.3. Alter bei der Erstdiagnose einer AORRP

n = 24 Patienten des beobachteten Kollektivs waren zum Zeitpunkt der Erstdiagnose älter als 12 Jahre und erfüllten somit das Alterskriterium einer adulten rezidivierenden respiratorischen Papillomatose (AORRP). Der Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde anhand der klinischen Untersuchung im beobachteten Zeitraum gestellt oder anamnestisch erhoben (siehe Tabelle 9).

**Tabelle 9: Altersverteilung bei der Erstdiagnose einer AORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Alter in Jahren	Männliche Patienten	Weibliche Patienten	Gesamt
Max	69	74	74
Mittelwert	42,93	50,33	45,71
Minimum	14	27	14
SD	16,04	18,09	16,85
<b>Patientenzahl</b>	n = 15 (62,5%)	n = 9 (37,5%)	n = 24 (100%)

*Tabelle 9: Altersverteilung in Jahren bei der Erstdiagnose einer AORRP*

### 3.2. Lokalisation der respiratorischen Papillome

Die Lokalisation der Papillome wurde je nach Auftreten in folgende respiratorische Bereiche unterteilt: supraglottischer, glottischer, subglottischer oder trachealer Befall sowie der Befall extralaryngealer Lokalisationen (siehe Tabelle 10). Bei n = 4 Patienten mit AORRP zeigten sich extralaryngeale Papillome, darunter Papillome des Nasopharynx und des Oropharynx (Weichgaumen). Bronchopulmonal zeigten sich bei keinem Patienten Papillome.

**Tabelle 10: Lokalisation der RRP**

n = Anzahl an Patienten			
Lokalisation des Befalls	JORRP	AORRP	Gesamt
Supraglottis	n = 3	n = 5	n = 8
Glottis	n = 5	n = 21	n = 26
Subglottis	n = 1	n = 1	n = 2
Trachea	n = 2	-	n = 2
Bronchopulmonal	-	-	-
Extralaryngeal	-	n = 4	n = 4
<b>Gesamt</b>	<b>n = 5</b>	<b>n = 24</b>	<b>n = 29</b>

*Tabelle 10: Lokalisation der respiratorischen Papillome*

Wie Tabelle 11 darstellt, imponierten die Papillome bei n = 20 Patienten von 29 Patienten (69%) des Gesamtkollektivs an nur einer Lokalisation, bei n = 5 Patienten (17,2%) hatte sich die Erkrankung bereits an 2 Lokalisationen ausgebreitet, bei n = 4 Patienten (13,8 %) handelte es sich um einen weit ausgedehnten Befall von 3 Lokalisationen im Verlauf der Erkrankung.

**Tabelle 11: Grad der Dissemination der RRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Anzahl befallener Lokalisationen	JORRP	AORRP	Gesamt
1 Lokalisation befallen	n = 1 (20%)	n = 19 (79,2%)	n = 20 (69%)
2 Lokalisationen befallen	n = 2 (40%)	n = 3 (12,5%)	n = 5 (17,2%)
3 Lokalisationen befallen	n = 2 (40%)	n = 2 (8,3%)	n = 4 (13,8%)
<b>Gesamt</b>	<b>n = 5 (100%)</b>	<b>n = 24 (100%)</b>	<b>n = 29 (100%)</b>

Tabelle 11: Dissemination der Erkrankung in Anbetracht der Anzahl betroffener Lokalisationen

**Abbildung 3: Anzahl betroffener Lokalisationen**

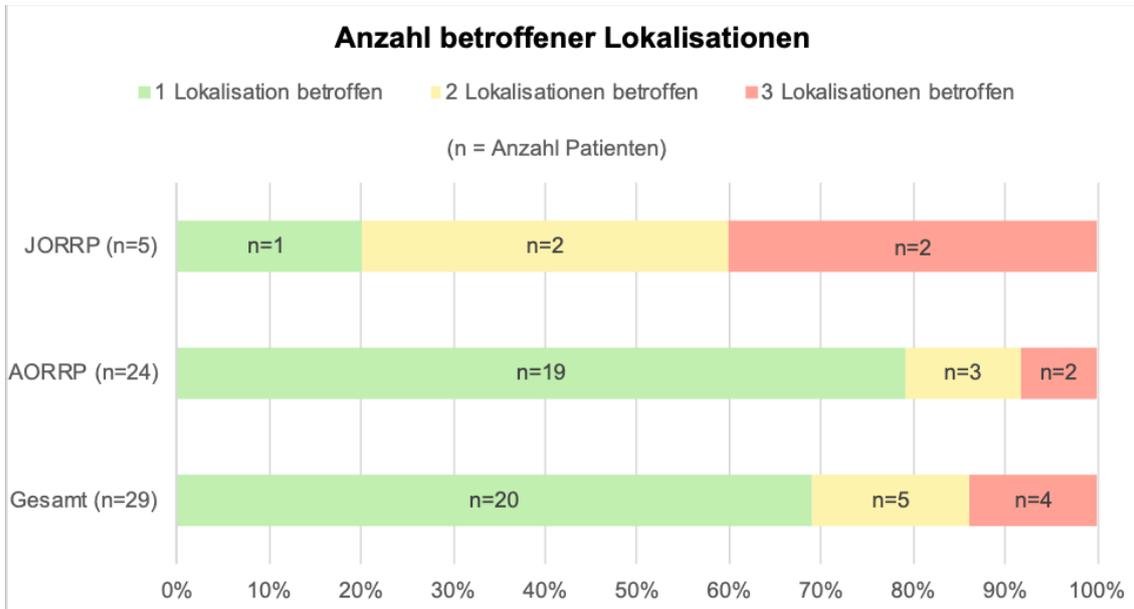


Abbildung 3: Prozentuale und nominale Verteilung der Dissemination der RRP differenziert in die Gruppe der JORRP, AORRP und des Gesamtkollektivs

Abbildung 3 zeigt den tendenziellen Unterschied in der Gruppe der Patienten mit ausgedehntem Befall über 3 Lokalisationen: Dieser umfasste in der Gruppe der AORRP 8,3% der Fälle (n = 2 von 24 Patienten); bei der Gruppe der JORRP lag ein solch fortgeschrittener Befall hingegen in 40% der Fälle vor (n = 2 von 5 Patienten) und spricht für die Aggressivität in puncto Ausbreitung der juvenilen Papillomatose.

### 3.2.3 Verteilung der HPV Typen

Tabelle 12 zeigt die Häufigkeit des Auftretens der nachgewiesenen HPV-Typen in den histologischen Proben des Patientenkollektivs aufgeteilt auf das Krankheitsbild der JORRP (n = 5), der AORRP (n = 24) sowie der Gesamtgruppe (n = 29).

**Tabelle 12: Verteilung der HPV-Typen**

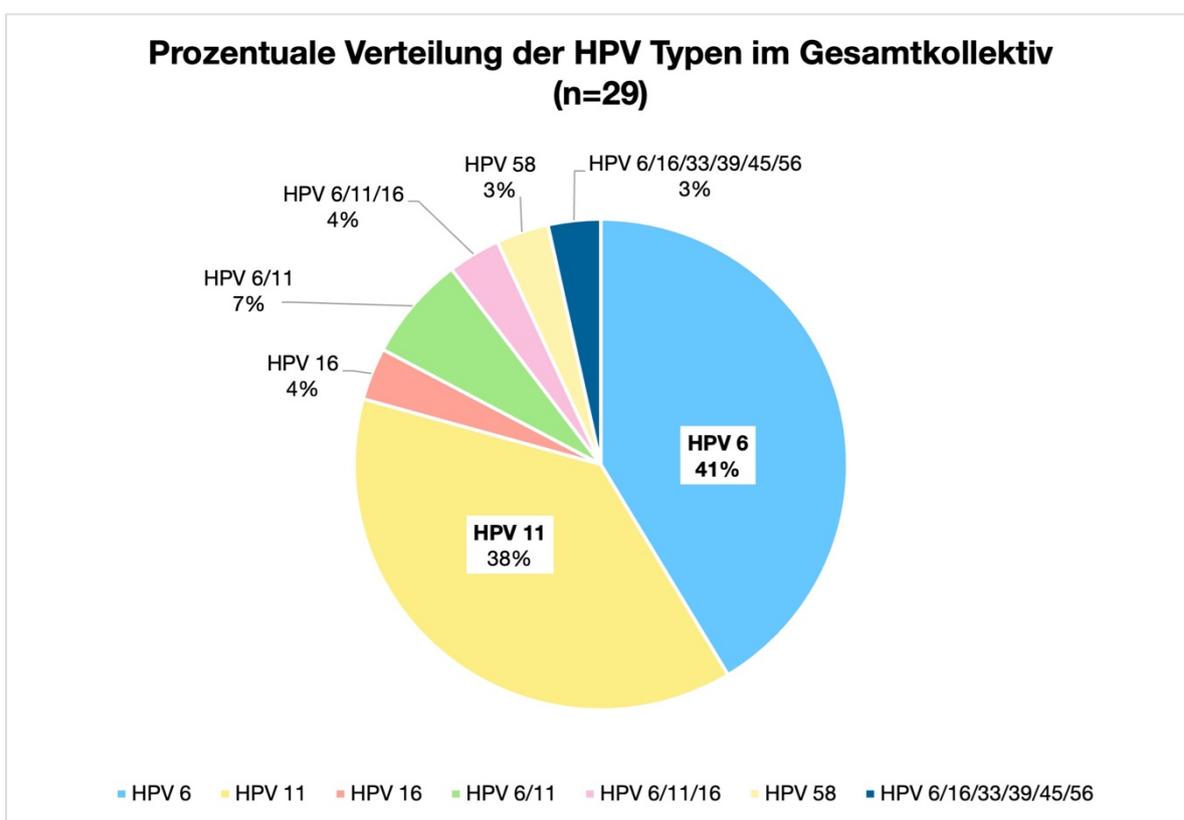
n = Anzahl an Patienten (prozentual %)			
Virustyp	JORRP	AORRP	Gesamt
HPV-Typ 6	n = 1 (20%)	n = 11 (45,8%)	n = 12 (41,4%)
HPV-Typ 11	n = 3 (60%)	n = 8 (33,3%)	n = 11 (37,9%)
HPV-Typ 16	-	n = 1 (4,2%)	n = 1 (3,4%)
HPV-Typ 6/11	-	n = 2 (8,3%)	n = 2 (6,9%)
HPV-Typ 6/11/16	-	n = 1 (4,2%)	n = 1 (3,4%)
HPV-Typ 58	-	n = 1 (4,2%)	n = 1 (3,4%)
HPV-Typ 6/16/18/33/39/45/56	n = 1 (20 %)	-	n = 1 (3,4 %)
<b>Gesamt</b>	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)

*Tabelle 12: Verteilung der HPV Typen im Patientenkollektiv - unterschieden zwischen JORRP und AORRP sowie im Gesamtkollektiv*

Abbildung 4 zeigt deutlich die im Gesamtkollektiv vorherrschende, singuläre Dominanz des die Papillome auslösenden „low-risk“ HPV-Typs 6 mit insgesamt 41,4% sowie des „low-risk“ HPV-Typs 11 mit insgesamt 37,9% der Fälle.

In Einzelfällen erfolgte der Nachweis des „high-risk“ HPV-Typs 16 oder mehrerer, die Erkrankung simultan verursachender HPV-Typen.

**Abbildung 4: Verteilung der HPV-Typen im Kollektiv**



*Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der dominierenden HPV-Typen im Gesamtkollektiv*

### **3.3. Operative Interventionen vor der Impfung**

Bei allen n = 29 Patienten wurden vor der ersten Applikation der Vakzine aufgrund papillomatöser Veränderungen mindestens zwei operative Interventionen vorgenommen (siehe Tabelle 13).

**Tabelle 13: Operative Therapie vor Impfbeginn**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

		JORRP	AORRP	Gesamt
<b>Patienten mit Vor-OPs vor Impfbeginn</b>		n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)
<b>Anzahl an Vor-OPs vor 1. Impfung pro Patient</b>	Max	24	13	24
	Mittelwert	8,6	4,29	5,03
	Min	2	2	2
	SD	8,76	3,22	4,72
<b>Gesamt</b>		n = 5	n = 24	n = 29

*Tabelle 13: Operative Therapie vor Beginn der Impfung und deren Anzahl*

Von den n = 29 beobachteten Patienten wurden 48,3 Prozent (n = 14) aufgrund ihrer Papillomatose erstmals an der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde in Tübingen operativ behandelt, während 51,7 Prozent (n = 15) bereits vorab an anderen Kliniken operativ versorgt wurden. In der Gruppe der JORRP erfolgte in 80% der Fälle eine operative Erstversorgung an anderen Kliniken und eine anschließende Überweisung nach Tübingen.

**Tabelle 14: Ort der Vor-Operationen**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Ort der Vor-Operationen	JORRP	AORRP	Gesamt
HNO Tübingen	n = 1 (20%)	n = 13 (54,2 %)	n = 14 (48,3 %)
Andere Kliniken	n = 4 (80%)	n = 11 (45,8 %)	n = 15 (51,7%)
<b>Patienten mit Vor-Operationen</b>	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)

*Tabelle 14: Ort der Vor-Operationen vor Beginn der Impftherapie*

Die Anzahl, das Datum der Operationen vor der Erstimpfung sowie die verwendete Operationstechnik konnte bei n = 14 Patienten, welche ausschließlich in Tübingen behandelt wurden, vollständig dokumentiert werden. Bei n = 13 von 14 Patienten (92,8%) wurden alle Abtragungen mittels der aktuell in Tübingen gebräuchlichen Operationstechnik mit dem „Microdebrider“ durchgeführt.

Bei n = 1 Patientin von 14, die ausschließlich in Tübingen operativ versorgt wurde, handelte es sich um einen Fall mit insgesamt 5 Vor-Operationen: Bei den ersten 4 operativen Interventionen zwischen 1990-2003 wurden die Papillome per Laser-Technik, bei der letzten Operation vor der Erstimpfung 2010 per „Microdebrider“ abgetragen.

Bei 24,1% aller Patienten (n = 7) konnte die Gesamtanzahl an Voroperationen nur anhand der Anamnese erhoben werden; das exakte Datum des jeweiligen Eingriffs sowie die Operationstechnik konnten nicht eruiert werden.

### **3.4. Adjuvante Therapie mit Cidofovir**

Die intraläsionale Injektion des Wirkstoffs Cidofovir wurde bei 93,1% des Gesamtkollektivs (n = 27 von 29 Patienten) als adjuvante Therapie bis zum Abschluss der Impfserie angewendet. Lediglich n = 2 von 29 Patienten (6,8%) erhielten keine Cidofovir Injektionen.

#### **3.4.1. Adjuvante Therapie mit Cidofovir vor der Impfung**

Die lokal medikamentöse Applikation von Cidofovir wurde bei insgesamt 86,2% der Patienten (n = 25) im Rahmen der operativen Interventionen vor der Impfung vorgenommen (siehe Tabelle 15).

**Tabelle 15: Adjuvante Therapie mit Cidofovir vor der Impfung**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Cidofovir Therapie vor Impfung		JORRP	AORRP	Gesamt
<b>Patienten</b>		n = 4 (80%)	n = 21 (87,5 %)	n = 25 (86,2 %)
<b>Anzahl Cidofovir Injektionen pro Patient</b>	Max	5	6	6
	Mittelwert	1,6	1,5	1,5
	Min	1	1	1
	SD	1,95	1,41	1,48
<b>Gesamt</b>	Anzahl	n = 5	n = 24	n = 29

*Tabelle 15: Adjuvante Therapie mit Cidofovir vor der Impfung*

### 3.4.2. Adjuvante Therapie mit Cidofovir während der Impfphase

Bei insgesamt n = 2 von 29 Patienten des Gesamtkollektivs (6,8%) wurde nach Beginn des Impfschemas der Wirkstoff Cidofovir im Rahmen einer operativen Intervention angewendet. Es handelt sich um Einzelfälle in beiden beobachteten Altersgruppen.

In der Gruppe der JORRP wurde in n = 1 von 5 Fällen (20%) der Wirkstoff Cidofovir im Zeitraum zwischen der 1. und 3. Impfung drei Mal appliziert, da dieser Patient sowohl während als auch nach Abschluss der Impfung interventionspflichtige, HPV-positive Papillome entwickelte.

Bei der AORRP Gruppe wurde in n = 1 von 24 Patienten (4,1%) im Behandlungsverlauf zwischen der 2. und 3. Impfung einmalig Cidofovir im Rahmen eines operativen Eingriffs injiziert, als die Patientin einen weiteren HPV 6 positiven Befall aufzeigte. Die Patientin entwickelte nach Abschluss des 3er-Impfschemas keine weiteren Rezidive.

### 3.4.3. Patienten ohne adjuvante Cidofovir-Therapie

In der Gruppe der adulten RRP erhielten n = 2 von 24 Patienten (8,3%) keine adjuvante Therapie mit dem Wirkstoff Cidofovir. Die Vor-Operationen der Patienten wurden zwischen 1987-2009 durchgeführt. In beiden Fällen kam es im weiteren Krankheitsverlauf nach der Impfung zu keinem Rezidiv (siehe Tabelle 16).

**Tabelle 16: Patienten ohne adjuvante Cidofovir Therapie**

Vor-Operationen	Patient 1	Patient 2
Anzahl an Vor-Operationen	n = 4	n = 6
Jahre	2006-2009	1987-2009
Ort	Tübingen	Andere Klinik (5 x 1987) Tübingen (1 x 2009)
Technik	Microdebrider	unbekannt, 1 x Laser (Tübingen)
Nachgewiesener HPV Typ	HPV 11	HPV 6
Impfung mit 3 Dosen Gardasil®	2009-2010	2010-2011
Follow-Up ohne Rezidivbildung (in Monaten)	130	112

*Tabelle 16: Patienten ohne adjuvante Therapie mit Cidofovir in der AORRP Gruppe*

## 3.5. Adjuvante Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®

### 3.5.1. Impfquote und zeitliche Abstände zwischen den Impfungen

Alle n = 29 beobachteten Patienten erhielten eine Immunisierung mittels 3 Impfdosen Gardasil® oder Gardasil9® gemäß den Empfehlungen des Herstellers MSD. Bei der 4. und 5. Impfung handelte es sich um vereinzelte Nachimpfungen mit dem neueren Impfstoff Gardasil9® nach der bereits zuvor abgeschlossenen Grundimmunisierung mit dem vorhergehenden Impfstoff Gardasil® (siehe Tabelle 17).

**Tabelle 17: Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®**

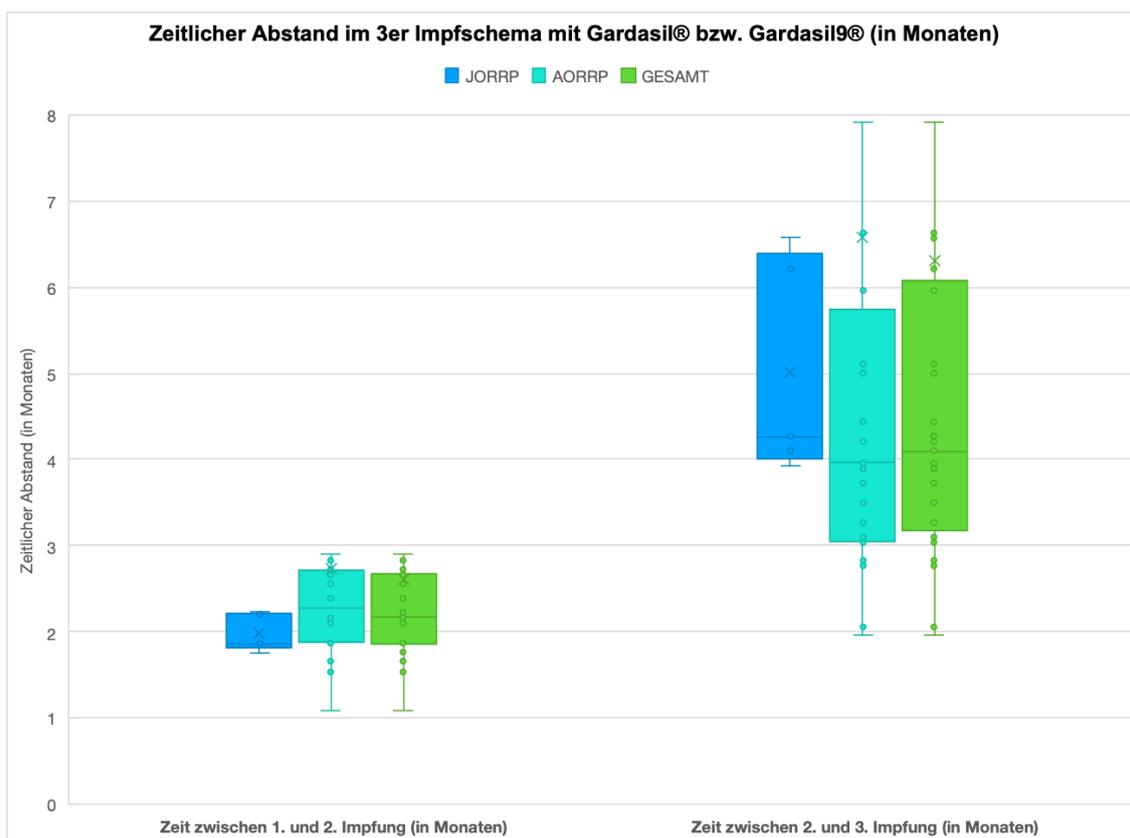
n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

		JORRP	AORRP	Gesamt
<b>1. Impfung</b>	Anzahl	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)
Zeitabstand 1. bis 2. Impfung (in Monaten)	Max	2	13	13
	Mittelwert	1,4	2,2	2,1
	Min	1	0,3	0,3
	SD	0,55	2,41	2,22
<b>2. Impfung</b>	Anzahl	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)
Zeitabstand 2. bis 3. Impfung (in Monaten)	Max	6	52	52
	Mittelwert	4,6	6,0	5,8
	Min	3	1	1
	SD	1,34	10,06	9,15
<b>3. Impfung</b>	Anzahl	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)
Zeitabstand 3. bis 4. Impfung (in Monaten)	Max	81	56	81
	Mittelwert	81	45	57
	Min	81	34	34
	SD	-	15,56	23,52
<b>4. Impfung</b>	Anzahl	n = 1 (20%)	n = 2 (8,3%)	n = 3 (10,3%)
Zeitabstand 4. bis 5. Impfung (in Monaten)	Max	2	5	5
	Mittelwert	2	5	3,5
	Min	2	5	2
	SD	-	-	2,12
<b>5. Impfung</b>	Anzahl	n = 1 (20%)	n = 1 (4,2%)	n = 2 (6,9%)
<b>Gesamt</b>	Anzahl	n = 5	n = 24	n = 29

*Tabelle 17: Impfquote der einzelnen Impfdosen sowie zeitliche Abstände zwischen den einzelnen Impfdosen*

Abbildung 5 zeigt die Abstände zwischen den Impfungen des 3-Dosen-Impfschemas mit Gardasil® bzw. Gardasil 9® in Monaten aufgeschlüsselt in die Altersgruppe der JORRP, der AORRP sowie die des Gesamtkollektivs.

**Abbildung 5: Zeitlicher Abstand bei der Impfung mit Gardasil® / Gardasil9®**



*Abbildung 5: Zeitliche Abstände zwischen den Einzel-Impfungen im 3er Impfschema*

Die vom Hersteller MSD (MSD, Gardasil9®, Fachinfo-Service, Stand Nov. 2021) angegebenen Idealabstände zwischen den einzelnen Impfdosen liegen bei 0, 2 und 6 Monaten; wobei alle drei Impfungen binnen eines Jahres nach der Erstimpfung abgeschlossen sein sollten. Der mittlere Abstand zwischen 1. und 2. Impfung liegt im beobachteten Gesamtkollektiv bei 2,1 Monaten (SD = 2,22), zwischen der 2. und 3. Impfung im Mittel bei 5,8 Monaten (SD = 9,15).

Tabelle 18 veranschaulicht die Zahl der Fälle, in denen die Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® gemäß den Empfehlungen binnen eines Jahres abgeschlossen werden konnte. Dies traf auf 89,6 Prozent des Gesamtkollektivs (n=26 von 29 Patienten) zu. In der Altersgruppe der juvenilen Papillomatose erhielten alle Patienten die 3. Impfdosis vor Ablauf eines Jahres nach der Erstimpfung.

**Tabelle 18: Abgeschlossene Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® binnen eines Jahres**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

Abstand zwischen 1. und 3. Impfung (in Tagen)	JORRP	AORRP	Gesamt
Max	253	1669	1669
Mittelwert	210	279,3	267,4
Min	174	135	135
SD	40,02	310,82	283,37
<b>Patienten mit abgeschlossener Impfung binnen 1 Jahres</b>	n = 5 (100%)	n = 21 (87,5%)	n = 26 (89,6%)

*Tabelle 18: Abgeschlossene Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® binnen eines Jahres nach 1. Impfung*

In der Gruppe der AORRP kam es in n=3 von 24 Fällen (12,5%) zu einem verspäteten Abschluss der Impfsérie, wobei es sich ausnahmslos um eine deutlich verspätete, aber dennoch durchgeführte 2. und 3. Impfung handelte. Im Mittel erhielten jedoch auch die Patienten der adulten Gruppe die 3. Impfung nach 279,3 Tagen und damit zeitgerecht für eine maximale Wirksamkeit des Vakzins laut Hersteller MSD (MSD, Gardasil9®, Fachinfo-Service, Stand Nov. 2021).

### 3.5.2. Alter zum Zeitpunkt der Erstimpfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®

Zum Zeitpunkt der ersten Impfung mit dem Impfstoff Gardasil® bzw. Gardasil9® waren die Patienten mit juveniler RRP im Schnitt 17,2 Jahre alt, während die Patienten mit adult diagnostizierter RRP durchschnittlich 53,8 Jahre alt waren. Genauere Angaben zum Zeitpunkt der Erstimpfung zeigt Tabelle 19.

**Tabelle 19: Alter bei Erstimpfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)			
Alter bei Erstimpfung (in Jahren)	JORRP	AORRP	Gesamt
Max	42	79	79
Mittelwert	17,2	53,8	47,5
Min	2	28	2
SD	16,36	14,90	20,47
<b>Anzahl geimpfter Patienten</b>	n = 5 (100%)	n = 24 (100%)	n = 29 (100%)

*Tabelle 19: Alter (in Jahren) bei Erstimpfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®*

### 3.5.3. Rezidive nach adjuvanter Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®

n = 12 (41,4 Prozent) der insgesamt n = 29 Patienten, die eine adjuvante Impfung mittels drei Impfdosen Gardasil® bzw. Gardasil9® erhielten, entwickelten im weiteren Krankheitsverlauf Rezidive mit positivem HPV-Nachweis. Bei der Gruppe der JORRP kam es in drei von fünf Fällen (60 Prozent) zu mindestens einem Rezidiv; in der Gruppe der AORRP in neun von 24 Fällen (37,5 Prozent).

Das erste Rezidiv trat im Gesamtkollektiv nach einer mittleren Zeit von 24,17 Monaten auf, minimal nach zwei, maximal 80 Monate nach Applikation der letzten Impfdosis (siehe Tabelle 20).

**Tabelle 20: Rezidiv post 3. Impfung**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

		JORRP	AORRP	Gesamt
<b>Zeitabstand 3. Impfung bis 1. Rezidiv (in Monaten)</b>	Max	80	29	80
	Mittelwert	50	15,56	24,17
	Min	28	2	2
	SD	26,91	11,74	21,78
<b>Rezidiv post 3. Impfung</b>	Anzahl	n = 3 (60%)	n = 9 (37,5 %)	n = 12 (41,4%)

*Tabelle 20: Anzahl an Patienten mit Rezidiv post 3. Impfung sowie zeitlicher Abstand 3. Impfung bis 1. Rezidiv, getrennt betrachtet für die Gruppe der JORRP (n=5), AORRP (n=24) sowie des Gesamtkollektivs (n=29)*

n = 17 von 29 Patienten (58,6%) zeigten nach vollständigem Abschluss des Impfschemas bis zum Ende des Beobachtungszeitraums kein Rezidiv. Der Beobachtungszeitraum umfasste dabei im Gesamtkollektiv im Mittel 90,76 Monate, minimal jedoch 37 Monate, bis hin zu maximal 150 Monaten (siehe Tabelle 21).

**Tabelle 21: Rezidivfreies Intervall post 3. Impfung**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

<b>Rezidivfreies Intervall</b>		JORRP	AORRP	Gesamt
Zeitabstand 3. Impfung bis Ende Follow-Up (in Monaten)	Max	150	138	150
	Mittelwert	134,0	85,0	90,76
	Min	118	37	37
	SD	22,63	30,61	33,42
<b>Kein Rezidiv post 3. Impfung</b>	Anzahl	n = 2 (40%)	n = 15 (62,5%)	n = 17 (58,6%)

*Tabelle 21: Rezidivfreies Intervall post 3. Impfung bis zum Ende des Beobachtungszeitraums, getrennt betrachtet für die Gruppe der JORRP (n=5), AORRP (n=24) sowie des Gesamtkollektivs (n=29)*

### 3.5.4. Behandlungsergebnisse nach Abschluss des 3er Impfschemas

Grafik 6 zeigt den direkten Vergleich zwischen der Gruppe der Patienten, die im Nachbeobachtungszeitraum erneut HPV-positive Papillome entwickelten gegenüber der Gruppe, bei denen nach Abschluss des 3er-Impfschemas mit Gardasil®/Gardasil9® kein weiteres Rezidiv auftrat.

Abbildung 6: Behandlungsergebnisse post 3. Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®

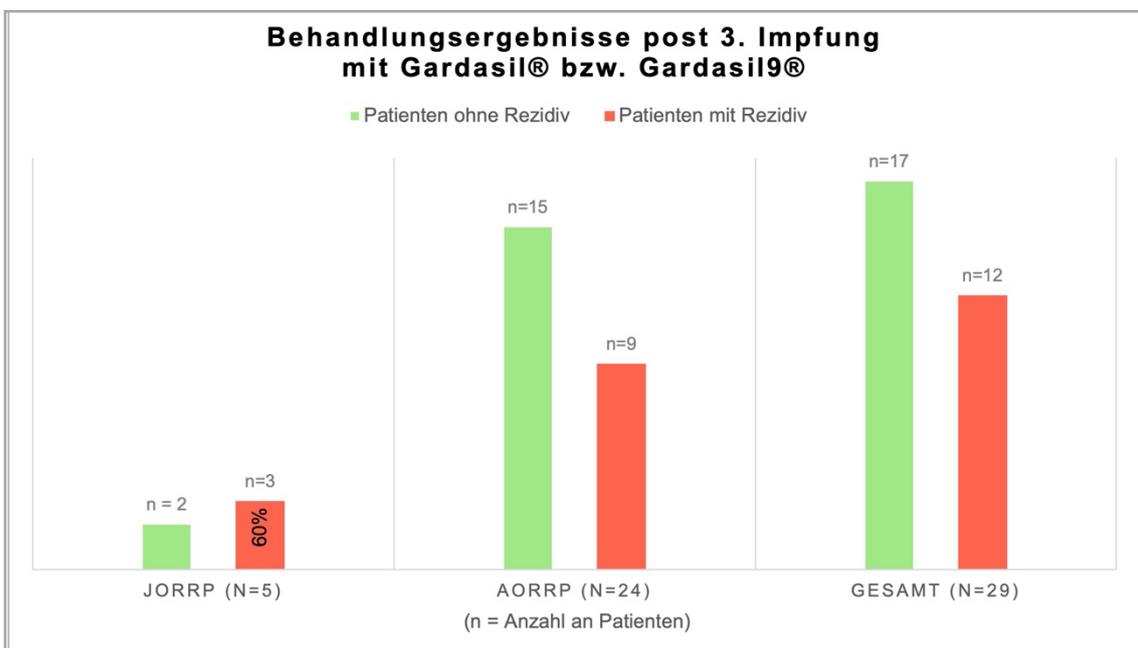


Abbildung 6: Weiterer Krankheitsverlauf nach Abschluss des 3er-Impfschemas getrennt aufgezeigt für die Gruppe der JORRP, AORRP sowie Gesamtgruppe

Abbildung 7 zeigt in Form der Überlebensanalyse nach Kaplan-Maier anschaulich, dass das letzte beobachtete Rezidiv 80 Monate nach der letzten Impfdosis auftrat und sich anschließend eine stabile Rezidivfreie Zeit bei insgesamt 58,6 Prozent (n=17 von 29) der Patienten bis zum Ende des Nachbeobachtungszeitraums von maximal 150 Monaten (min: 37 Monate; Mittel: 90,76 Monate; max: 150 Monate; SD: 33,42 Monate) anschloss.

Abbildung 7: Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Maier

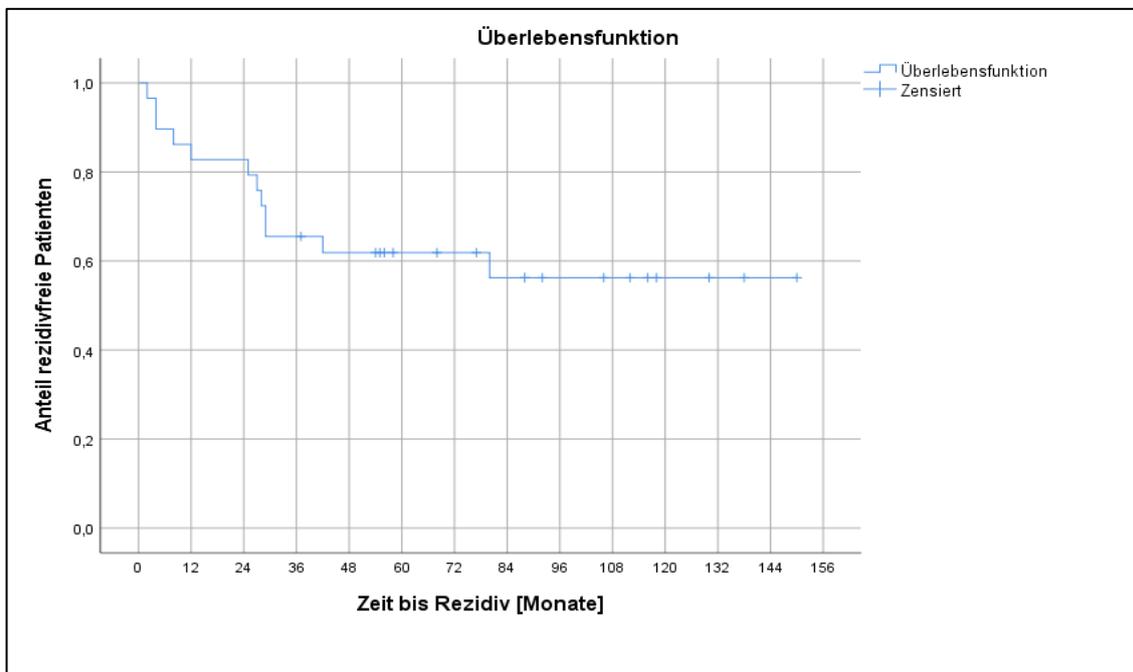


Abbildung 7: Kaplan-Maier-Überlebensanalyse des Rezidivfreien Intervalls (in Monaten) für mittels Gardasil®/Gardasil 9® dreifach geimpfte Patienten mit RRP

### 3.6. Analyse des HPV-Antikörperstatus bei Patienten mit RRP

Vor Beginn der Impfung mit Gardasil® bzw. Gardasil9®, im Verlauf und nach deren Abschluss wurde bei allen n=29 Patienten im Rahmen der Standarddiagnostik der RRP Vollblut entnommen. Dieses wurde anschließend mittels High-Throughput Pseudovirion-based Neutralization Assay (HT-PBNA) auf das Vorliegen neutralisierender Antikörper gegen das L1-Hauptkapsid der HPV Typen 6, 16, 18, 31, 33, 45 und 58 getestet. Leider wurden die neutralisierenden Antikörper gegenüber HPV 11 nicht bestimmt. Eine diesbezügliche Überprüfung für HPV Typ 11 war mittels HT-PBNA aktuell noch nicht möglich.

Die nachfolgende statistische Auswertung der Ergebnisse konzentriert sich auf den Verlauf des Antikörperstatus der die RRP auslösenden Typen HPV 6, 16 und 18 im direkten Vergleich der mittleren effektiven Dosis (ED50) der neutralisierenden Antikörper vor Beginn der Impfung im Vergleich zum ED50-Wert nach

Abschluss der Impfserie. Bislang erfolgte für Gardasil®/Gardasil9® allerdings noch keine Definition einer schützenden Mindest-Konzentration neutralisierender Antikörper, das Auftreten HPV-bedingter Erkrankungen verhindern könnte. Der Hersteller MSD schreibt dazu in der Fachinformation zu Gardasil9®: *„Die Untergrenze der anti-HPV-Antikörperkonzentration mit protektiver Wirksamkeit ist nicht bekannt. Die Immunogenität jedes einzelnen Impfstoff-HPV-Typs wurde mittels eines typspezifischen Immunoassays mit typspezifischen Standards bestimmt. Dieser Assay misst für jeden einzelnen HPV-Typ die Antikörper gegen neutralisierende Epitope. Der Maßstab dieses Assays ist für jeden HPV-Typ spezifisch, aus diesem Grund sind direkte Vergleiche zwischen den Typen und mit anderen Assays nicht möglich“* (MSD, Gardasil9®, Fachinfo-Service, Stand Nov. 2021).

### **3.6.1. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 6**

Alle juvenilen Patienten (n=5) zeigten nach der Analyse durch die HT-PBNA im Hinblick auf den Typ HPV 6 einen niedrigen, seropositiven (ED50>80) ED50-Wert neutralisierender Antikörper vor Beginn der Impfung. Dennoch war keine ausreichende natürliche Immunität vorhanden. Es imponierte tendenziell ein Anstieg der neutralisierenden Antikörper im Mittel um das 173,6-fache des ED50-Basiswerts (min: 8,1-fach; max.: 661,8-fach) nach Abschluss des 3er-Impfschemas (siehe Tabelle 22).

**Tabelle 22: HPV 6 Antikörperstatus in der Gruppe der JORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

HT - PBNA		EC50 prä Vacc	Faktorielle Veränderung	EC50 post Vacc
	Max	516,0	661,8	180.000,0
Mittlere effektive Konzentration (ED50) neutralisierender Antikörper gegen HPV 6	Mittelwert	299,2	173,6	47.580,4
	Min	226,0	8,1	1.824,0
	SD	122,40	278,78	75.202,74
<b>Anzahl seropositiver Patienten (ED50 &gt; 80)</b>	Anzahl	n = 5 (100%)		n = 5 (100%)

*Tabelle 22: Mittlere Dosis neutralisierender Antikörper (ED50) gegen HPV 6 in der Gruppe der JORRP analysiert mittels HT-PBNA vor und nach Abschluss des 3er-Impfschemas mit Gardasil®/Gardasil9®*

Der Nachweis der HPV 6-positiven RRP gelang mithilfe der PCR aus operativ gewonnenem Papillomgewebe in n=2 von 5 Fällen bei der JORRP.

Im Fall der Patientin 2 (Grafik 8) handelte es sich um einen mehrfach PCR-positiven Papillombefall im Gewebe bei Vor-Operationen durch die HPV Typen 6, 16, 18, 33, 39, 45, 56. Der rot gekennzeichnete Verlauf spiegelt den Anstieg des ED50-Werts bis nach Abschluss der Impfserie um das 149-fache des Ausgangswerts vor Beginn der Impfung wider (ED50 prä Vacc: 236; ED50 post Vacc: 35.174). Hier trat ein Rezidiv 80 Monate post 3. Impfung ein.

Die in Grafik 8 gezeigte Patientin 3 blieb hingegen im weiteren Verlauf nach Abschluss der Impfserie für 118 Monate bis zum Ende des Nachbeobachtungszeitraums frei von Rezidiven. Bei dieser zeigte sich ein Anstieg neutralisierender Antikörper wie in Grafik 8 rot dargestellt um das 32,7-fache (ED50 prä Vacc: 516; ED50 post Vacc: 16.865).

Abbildung 8: HPV6 Antikörperstatus bei JORRP

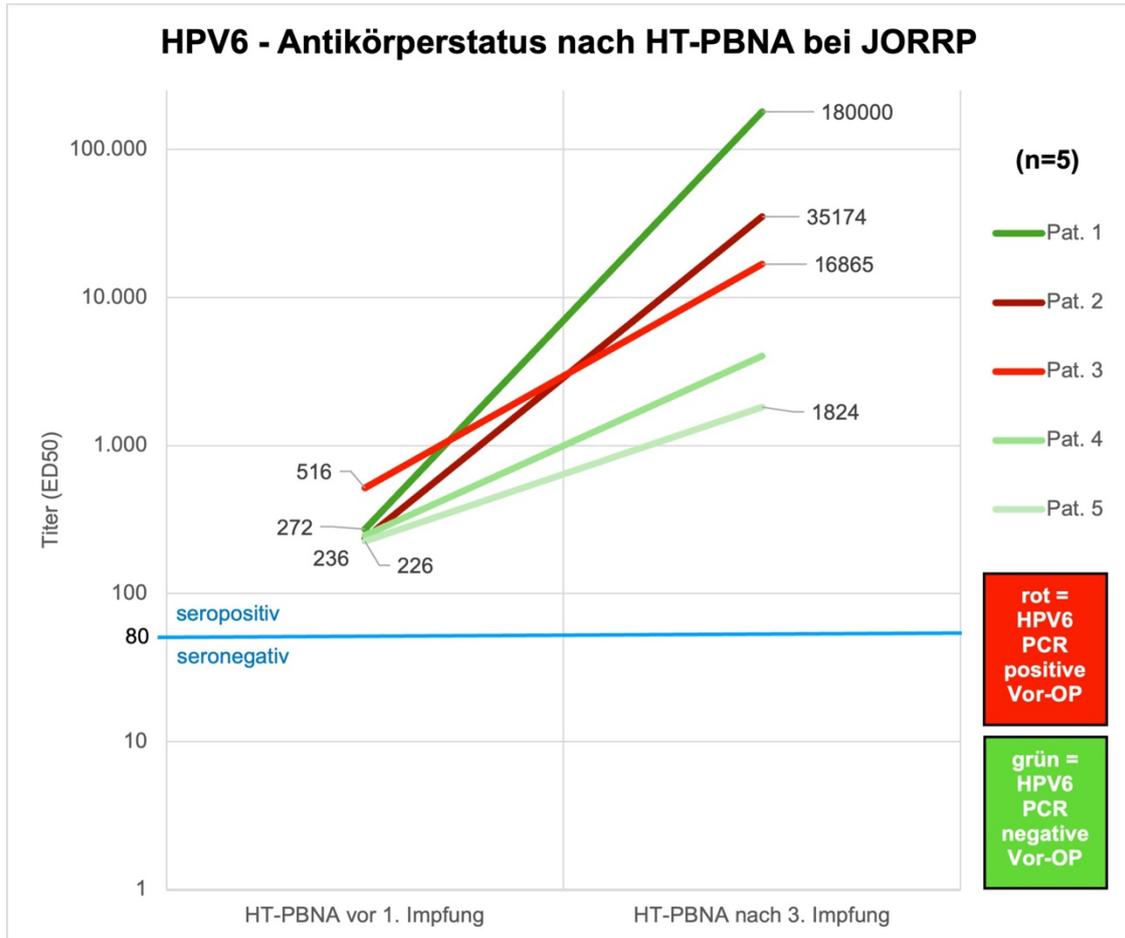


Abbildung 8: Verlauf der Antikörpertiter Konzentration (ED50) in Bezug auf HPV 6 bei JORRP (n=5) vor 1. Impfung im Vergleich nach 3. Impfung analysiert durch HT-PBNA

### 3.6.2. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 16

Tabelle 23 sowie Grafik 9 veranschaulichen, dass sich auch bei der Analyse durch HT-PBNA in Hinblick auf den HPV Typ 16 erkennen lässt, dass bei allen juvenilen Patienten (n=5) ein niedrig, seropositiver ( $ED_{50} > 80$ )  $ED_{50}$ -Wert neutralisierender Antikörper vor Applikation der 1. Impfdosis Gardasil®/Gardasil9® vorlag. Im Verlauf des Impfschemas bis zu dessen Abschluss imponierte ein deutlicher Anstieg neutralisierender Antikörper im Mittel um das 228,2-fache des  $ED_{50}$ -Basiswerts (min: 6,2-fach; max.: 923,1-fach).

**Tabelle 23: HPV 16 Antikörperstatus in der Gruppe der JORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

HT - PBNA		EC50 prä Vacc	Faktorielle Veränderung	EC50 post Vacc
	Max	206,0	923,1	180.000,0
Mittlere effektive Konzentration (ED50) neutralisierender Antikörper gegen HPV 16	Mittelwert	188,2	228,2	43.743,8
	Min	158,0	6,2	1.286,0
	SD	18,19	391,33	76.630,80
<b>Anzahl seropositiver Patienten (ED50 &gt; 80)</b>	Anzahl	n = 5 (100%)		n = 5 (100%)

*Tabelle 23: Mittlere Dosis neutralisierender Antikörper (ED50) gegen HPV 16 in der Gruppe der JORRP analysiert mittels HT-PBNA vor und nach Abschluss des 3er-Impfschemas mit Gardasil®/Gardasil9®*

Ein positiver PCR-Nachweis des HPV Typ 16 aus betroffenem Gewebe in einer Vor-OP lag in n=1 von 5 juvenilen Proben bei Patientin 2 vor (Grafik 9 rot dargestellt). Bei dieser handelt es sich um die bereits beschriebene Patientin mit Befall durch die HPV Typen 6, 16, 18, 33, 39, 45, 56. Ein Rezidiv trat 80 Monate post 3. Vakzine trotz Anstieg der ED50-Werte um das 102-fache ein (ED50 prä Vacc: 158; ED50 post Vacc: 16.110).

Abbildung 9: HPV16 Antikörperstatus bei JORRP

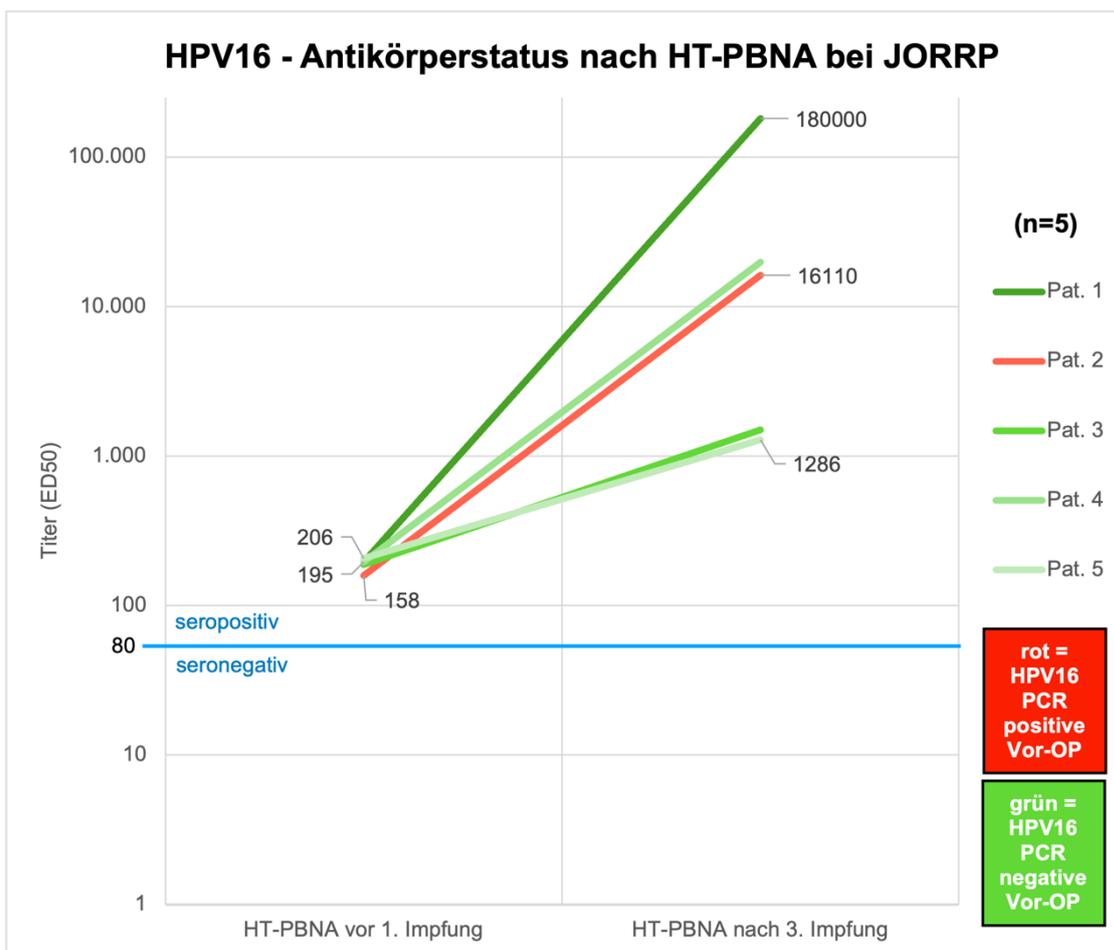


Abbildung 9: Verlauf der Antikörpertiter Konzentration (ED50) in Bezug auf HPV 16 bei JORRP (n=5) vor 1. Impfung im Vergleich nach 3. Impfung analysiert durch HT-PBNA

### 3.6.3. Antikörperstatus bei JORRP in Bezug auf den HPV Typ 18

Tabelle 24 sowie Grafik 10 weisen den Verlauf des Antikörperstatus hinsichtlich des HPV Typen 18 in der Gruppe der JORRP nach Analyse durch HT-PBNA auf. Wie auch bei HPV Typ 6 und 16 zuvor zeigt sich bei allen juvenilen Patienten (n=5) ein niedrig, seropositiver (ED50>80) ED50-Wert neutralisierender Antikörper vor Beginn der Impfung mit Gardasil®/Gardasil9®, der eine natürliche Immunität jedoch nicht erwarten lässt. Nach Abschluss des 3er-Impfschemas verzeichnet sich ein Anstieg neutralisierender Antikörper im Mittel um das 72,5-fache des

ED50-Basiswerts (min: 1,2-fach; max.: 325,9-fach). Der Anstieg der ED50-Werte fällt somit geringer aus als bei denen der HPV Typen 6 und 16.

**Tabelle 24: HPV 18 Antikörperstatus in der Gruppe der JORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

HT - PBNA		EC50 prä Vacc	Faktorielle Veränderung	EC50 post Vacc
	Max	167,0	325,9	53.114,0
Mittlere effektive Konzentration (ED50) neutralisierender Antikörper gegen HPV 18	Mittelwert	149,6	72,5	11.611,4
	Min	128,0	1,2	185,0
	SD	18,98	141,85	23.220,54
<b>Anzahl seropositiver Patienten (ED50 &gt; 80)</b>	Anzahl	n = 5 (100%)		n = 5 (100%)

*Tabelle 24: Mittlere Dosis neutralisierender Antikörper (ED50) gegen HPV 18 in der Gruppe der JORRP analysiert mittels HT-PBNA vor und nach Abschluss des 3er-Impfschemas mit Gardasil®/Gardasil9®*

Der positive PCR-Nachweis des HPV Typ 18 gelang hinsichtlich Biopsie aus Gewebe einer Vor-OP in n=1 von 5 Fällen bei der JORRP. Diese bereits beschriebene, durch die HPV Typen 6, 16, 18, 33, 39, 45, 56 mehrfach befallene Patientin 2 zeigte einen Anstieg neutralisierender Antikörper wie in Grafik 10 rot dargestellt hinsichtlich ihres HPV 18 Status um das 32,7-fache (ED50 prä Vacc: 516; ED50 post Vacc: 16.865). Bei der Patientin bildete sich nach Abschluss der Impfung nach 80 Monaten ein Rezidiv.

Abbildung 10: HPV18 Antikörperstatus bei JORRP

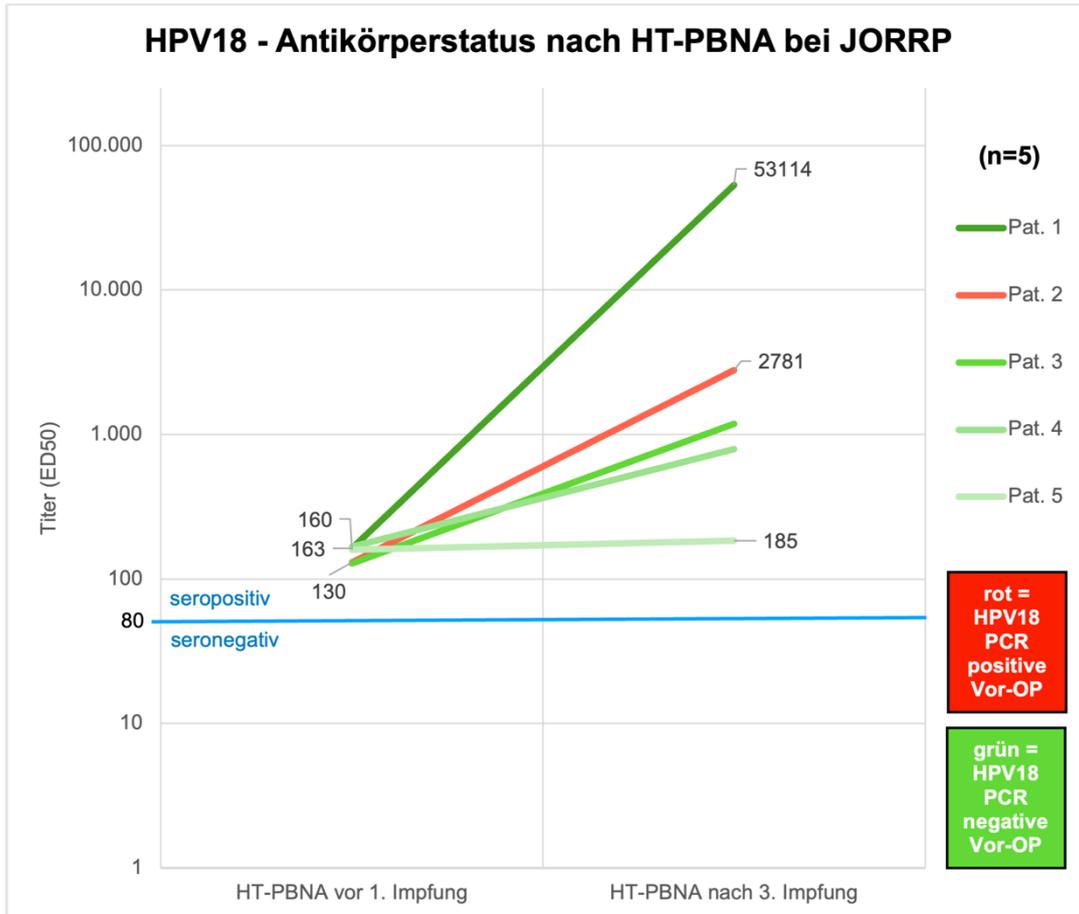


Abbildung 10: Verlauf der Antikörpertiter Konzentration (ED50) in Bezug auf HPV 18 bei JORRP (n=5) vor 1. Impfung im Vergleich nach 3. Impfung analysiert durch HT-PBNA

### **3.7. HPV-Antikörperstatus-Analyse bei Patienten mit AORRP**

Bei der Hälfte der Patienten (n=12 von 24) mit dem Krankheitsbild AORRP lagen Blutseren vor Beginn der 1. Impfung sowie nach erfolgter 3. Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® vor, die zur Analyse mittels High-Throughput Pseudovirion-based Neutralization Assay (HT-PBNA) geeignet waren. Für die andere Hälfte (n=12 von 24 Patienten) konnten ED50-Einzelwerte, jedoch nicht der Verlauf der Antikörpertiter ermittelt werden. Somit stehen bei der AORRP die Ergebnisse der HT-PBNA von insgesamt n=12 der 24 Patienten (50%) für die Analyse des Verlaufs der Antikörperkonzentration im Rahmen der Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® bereit.

Die vorliegenden n = 12 Proben der AORRP Gruppe wurden auf das Vorliegen und die Titer (ED50-Werte) neutralisierender Antikörper des HPV-Typen 6 geprüft, welcher mittels PCR nachweislich in der Hälfte der Fälle (n=6 von 12) die Papillome der ausgewerteten Patienten mit AORRP verursacht hatte. In weiteren n=6 von 12 Fällen bei den AORRP Patienten wurde die Papillomatose durch den HPV Typ 11 ausgelöst, der bisher leider nicht durch die HT-PBNA bestimmt werden konnte.

#### **3.7.1. Antikörperstatus bei AORRP in Bezug auf den HPV Typ 6**

Alle ausgewerteten, adulten Patienten (n=12 von 12) zeigten nach der Analyse durch die HT-PBNA im Hinblick auf den Typ HPV 6 einen niedrigen, seropositiven (ED50>80) ED50-Wert neutralisierender Antikörper vor Beginn der Impfung. Es imponierte ein sichtbarer Anstieg der neutralisierenden Antikörper im Mittel um das 34,9-fache des ED50-Basiswerts (min: 1,4-fach; max.: 198,4-fach) nach Abschluss des 3er-Impfschemas (siehe Tabelle 25); wobei die Anstiege der Antikörpertiter im Mittel flacher als in der Gruppe der JORRP ausfielen.

**Tabelle 25: HPV 6 Antikörperstatus in der Gruppe der AORRP**

n = Anzahl an Patienten (prozentual %)

HT - PBNA		EC50 prä Vacc	Faktorielle Veränderung	EC50 post Vacc
	Max	1717,0	198,4	89.295,0
Mittlere effektive Konzentration (ED50) neutralisierender Antikörper gegen HPV 6	Mittelwert	434,3	34,9	14.686,2
	Min	145,0	1,4	292,0
	SD	425,46	55,81	25.493,64
<b>Anzahl seropositiver Patienten (ED50 &gt; 80)</b>	Anzahl	n = 12 (100%)		n = 12 (100%)

*Tabelle 25: Mittlere Dosis neutralisierender Antikörper (ED50) gegen HPV 6 in der Gruppe der AORRP analysiert mittels HT-PBNA vor und nach Abschluss des 3er-Impfschemas mit Gardasil®/Gardasil9®*

Der Nachweis einer HPV 6-positiven RRP gelang mithilfe der PCR aus operativ gewonnenem Papillomgewebe in Vor-Operationen in der Hälfte der Fälle (n=6 von 12) bei der AORRP. Diese wurden in Grafik 11 in Rottönen dargestellt. Von diesen n=6 ursprünglich durch HPV Typ 6 ausgelösten Papillom-Patienten kam es wiederum in einem Drittel der Fälle (n=2 von 6) zum Rezidiv durch einen erneuten Befall mit dem HPV Typ 6. Es handelt sich hierbei um die in Abbildung 11 intensiv hellrot dargestellten Patienten Nr. 1 sowie Nr. 2. Patient Nr. 2 zeigte als einziger von n=12 Patienten der AORRP Gruppe bereits vor Beginn der Impfung einen nachweisbaren Antikörper-Titer, der eine natürliche Immunität hervorgerufen haben könnte.

In n=10 von insgesamt 12 ausgewerteten AORRP Fällen wurde kein Rezidiv der Erkrankung durch den HPV Typ 6 hervorgerufen. Bei zwei Dritteln (n=4 von 6) der ursprünglich sowie nachweislich durch HPV Typ 6 erkrankten, adulten Patienten blieben ebenfalls weitere Rezidive im Nachbeobachtungszeitraum aus.

Abbildung 11: HPV6 Antikörperstatus bei AORRP

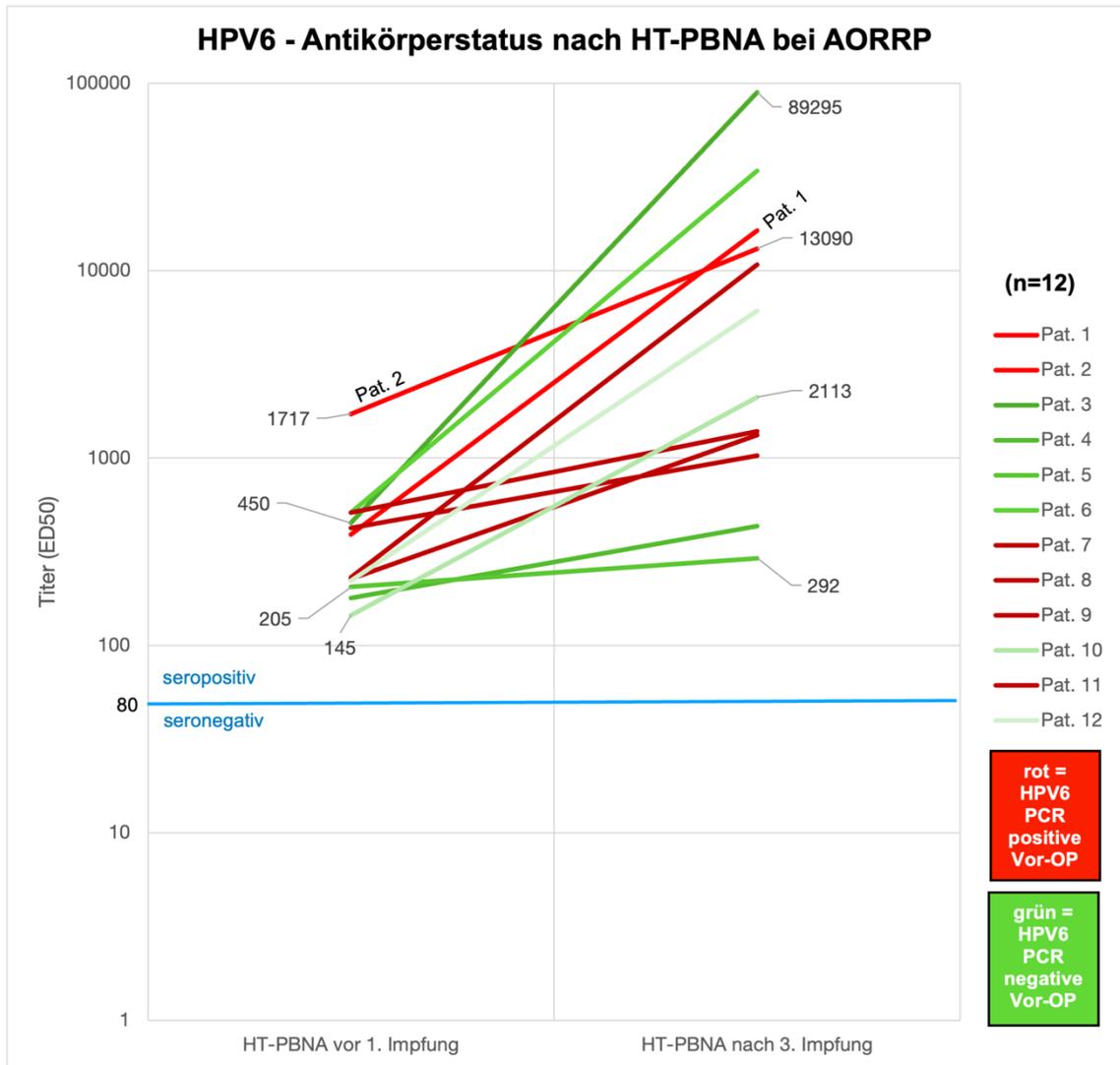


Abbildung 11: Verlauf der Antikörpertiter Konzentration (ED50) in Bezug auf HPV 6 bei AORRP (n=12) vor 1. Impfung im Vergleich nach 3. Impfung analysiert durch HT-PBNA

## 4. Diskussion

Die rezidivierend respiratorische Papillomatose (RRP) verursacht auf Grundlage einer Infektion mit dem Humanen Papillomavirus (HPV), zumeist Typ 6, 11, 16 oder 18, wiederkehrende, papillomatöse Wucherungen im respiratorischen System. Vorzugsweise betrifft dies den Bereich des Larynx. Diese seltene Erkrankung manifestiert sich mit bimodalem Altersgipfel in einer juvenilen und einer adulten Variante. Aufgrund ihrer aggressiven Neigung zu Rezidiven lassen sich häufig nur erschwert zufrieden stellende Behandlungsergebnisse realisieren. Langfristig stellen die Elimination der auslösenden HPV Viren im Körper des Patienten und die kurative Intention der Heilung die höchsten Ziele dar. Kurzfristig zielt die Behandlung der RRP darauf ab, die Funktion des Larynx und daran angrenzender Strukturen sowie die Lebensqualität der Patienten zu erhalten. Hohe Priorität haben ebenfalls die Sicherung der Atemwege, die Erhaltung der Stimmqualität und eine Reduktion der hierzu notwendigen operativen Eingriffe.

Aufgrund geringer, „*limitierender Fallzahlen*“ (Mauz et al., 2018) auf der einen Seite und der „*großen, unberechenbaren Variabilität des Krankheitsverlaufs*“ (Derkay, 2001) auf der anderen, gibt es bislang kein einheitliches Behandlungsregime. Derkay (2001): „*Kein einziges Therapieregime hat sich als durchweg wirksam in der Ausrottung der RRP erwiesen... viele adjuvante Therapien wurden untersucht, um die chirurgische Therapie zu ergänzen.*“

Der Erstdiagnose schließen sich somit für Patienten mit RRP initial wiederholte, operative Ablationen in unterschiedlichsten Techniken an, da der therapeutische Goldstandard nach wie vor die operative Entfernung der Papillome darstellt. Trotz intensiver, chirurgischer Bemühungen treten in 71,9 Prozent der juvenilen Fälle sowie in 22,8 Prozent der adulten Fälle wiederholt Rezidive auf (Uloza, 2000). Da die alleinige, operative Versorgung somit in vielen Fällen unbefriedigende Ergebnisse erzielt, stehen für Rezidiv-Patienten eine Vielzahl adjuvanter, therapeutischer Maßnahmen zur Diskussion: angefangen bei Ernährungsberatung und

Phytotherapie bis hin zu off-label-basierter, antiviraler oder immunmodulatorischer Medikation mit zum Teil erheblichen, unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen. In der gesamttherapeutischen Zusammenschau ergeben sich demzufolge massive Kosten für die Versorgung der Patienten, eine hohe Rate an Hospitalisierung sowie hohe psychische und familiäre Belastungen (Derkay & Bluhner, 2019).

Einen wegweisenden, adjuvanten Therapieansatz bei gleichsam minimalem Nebenwirkungsspektrum stellt hingegen die Impfung mit Gardasil®/Gardasil 9® dar, welcher seit einigen Jahren zunehmend in den Fokus der adjuvanten Behandlung und der damit aktuell einhergehenden Forschung rückt (Ivancic et al., 2019; Mauz et al., 2018; Novakovic et al., 2017). Die gegen das HPV Virus gerichtete Impfung soll, die bei betroffenen Patienten geringe humorale Immunantwort gegenüber dem HPV Virus stimulieren und somit einen protektiven Effekt zum Schutz vor erneuten Rezidiven hervorrufen.

Dieser adjuvante Therapieeinsatz der Impfung wurde seit Einführung des Impfstoffs 2006 auch an der Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde in Tübingen verfolgt. Jüngst diskutierten Mauz et al. (2018) das Behandlungsergebnis von 24 in Tübingen behandelten Patienten, von denen 13 additiv zur chirurgischen Versorgung und adjuvanten Therapie mittels Cidofovir geimpft wurden und bei denen wiederum nur 2 der Geimpften ein Rezidiv im Beobachtungszeitraum (max.: 86 Monaten) entwickelten, wohingegen alle Nicht-Geimpften in diesem Zeitraum Rezidive aufwiesen.

Auf Grundlage dieser retrospektiven Beobachtungen von Mauz et al. (2018) ergibt sich die Hypothese, eine adjuvante Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® könne entscheidend zur Verbesserung des Behandlungsergebnisses der RRP und zum Behandlungserfolg, vor allem bei Kindern, beitragen (Kumar & Preciado, 2019).

Die in dieser Dissertation erarbeiteten Ergebnisse präsentieren retrospektiv die klinischen Beobachtungen über einen Zeitraum von 13 Jahren (2007-2020) basierend auf der therapeutischen Trias der RRP. Diese gründet auf der operativen Ablation der Papillome mittels „Microdebrider“, additiv der lokalen, intraläsionalen Applikation des Wirkstoffs Cidofovir sowie der Vakzinierung mittels Gardasil®/Gardasil9®.

Diese Dissertation widmet sich darüber hinaus mit besonderem Augenmerk dem durch High-Throughput Pseudovirion-Based Neutralization assay (HT-PBNA) ermittelten Status neutralisierender Antikörper gegen das HPV Virus vor und nach Vakzinierung bei den untersuchten Patienten mit RRP. Bereits Pawlita und Gissmann (2009) vermuteten, dass bei Patienten mit RRP gleichermaßen eine verringerte, natürliche Immunantwort gegenüber einer Infektion mit HPV Viren vorliege, gleichsam jedoch ein gutes Ansprechen des Immunsystems der Erkrankten auf eine Impfung im Sinne einer Auffrischimpfung zu beobachten sei. Den quantitativen Beweis dieser Hypothese bezüglich der RRP erbringen nun erstmals in großem Rahmen die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse.

Dementsprechend ließe sich die Reduktion erneuter, interventionspflichtiger Rezidive der Erkrankung erklären, welche wir klinisch im Laufe der vergangenen 13 Jahre an einer relativ großen Kohorte beobachten konnten.

## **4.1. Diskussion der Patientencharakteristika**

Unser Patientenkollektiv stellt mit insgesamt n=29 dreifach mit Gardasil®/Gardasil9® geimpfter Patienten in der bisherigen Literatur eine große Studienpopulation in Bezug auf die RRP dar. Im Geschlechterverhältnis dominiert in der untersuchten Gesamtgruppe das männliche Geschlecht mit n=17 (58,6%) gegenüber n=12 (41,4%) weiblichen Patientinnen.

### **4.1.2. Diskussion der Patientencharakteristika bei AORRP**

Im Patientenkollektiv der AORRP (n=24) zeigt sich eine mit dem bisherigen Stand der Forschung in Einklang zu bringende Überrepräsentanz männlicher Patienten (n=15) im Verhältnis 1,6:1 gegenüber dem weiblichen Geschlecht (n=9). Armstrong et al. (1999) schätzten das männlich dominierte Verhältnis bei der AORRP auf 2:1 bis 4:1. Das von Andratschke et al. (2008) beschriebene, mittlere Erkrankungsalter zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr wird in dem von uns ermittelten Wert von 45,71 Jahren (min: 14 Jahre, max.: 74 Jahre, SD: 16,85 Jahre) leicht überschritten. Nahezu die Hälfte der adulten Patienten (45,8 Prozent) waren bereits in anderen Kliniken therapeutisch vorbehandelt worden.

### **4.1.2. Diskussion der Patientencharakteristika bei JORRP**

In der kleinen Gruppe der JORRP (n=5) herrscht hingegen ein recht ausgeglichenes Geschlechterverhältnis in dem von uns untersuchten Patientengut mit n=2 (40%) männlichen sowie n=3 (60%) weiblichen Erkrankten wie es auch bereits Andratschke et al. (2008) für die juvenile Form der RRP mit Beginn vor dem 12. Lebensjahr nach der Definition von Larson & Derkay (2010) beschrieb. Ebenfalls entspricht das von uns ermittelte Alter bei Erstdiagnose einer JORRP von durchschnittlich 2,6 Jahren (min: 1 Jahr, max.: 5 Jahre, SD: 1,82 Jahre) exakt dem Höhepunkt der juvenilen Erstmanifestation zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr nach Armstrong et al. (1999). Bei den juvenilen Patienten wurde die deutliche Mehrheit in Höhe von 80 Prozent bereits in anderen Kliniken erstversorgt, bevor eine Überweisung in unsere Institution erfolgte.

#### **4.1.3. Diskussion der Lokalisation der RRP**

Insgesamt lokalisieren sich die Papillome in unserem Patientenkollektiv bei der überwiegenden Anzahl der Fälle (n=26 von 29 Patienten) im Bereich der Glottis, gefolgt vom supraglottischen Bereich (n=8 von 29 Patienten). Bei knapp einem Drittel zeigt sich auffällig ein deutlich fortgeschrittenes, disseminiertes Stadium der RRP: Bei insgesamt 17,2% (n=5 von 29 Patienten) zeigen sich zwei Lokalisationen betroffen; bei 13,8% (n=4 von 29) handelt es sich sogar um einen extremen Befall gleich dreier Lokalisationsbereiche.

Vor allem die n=5 juvenilen Patienten zeigen dabei häufiger eine ausgedehnte Pathologie: In nur n=1 von 5 Fällen liegt die JORRP an einer isolierten Lokalität vor, wohingegen 80 Prozent zwei oder sogar drei betroffene Areale aufweisen. Dies spricht für die Aggressivität der juvenilen Larynxpapillomatose und bestärkt diesbezügliche Äußerungen über die JORPP durch Andratschke et al. (2008).

## 4.2. Die Prävalenz der HPV Typen im Kollektiv

Eine Infektion mit den als „low-risk“ klassifizierten, humanen Papillomviren Typ 6 und 11 wird in den meisten Fällen als ursächlich für die Genese der RRP beschrieben (Carifi et al., 2015; Venkatesan et al., 2012). In unserem Patientenkollektiv bestätigt sich die hohe Prävalenz der HPV Typen 6 und 11: In 93 % (n=27 von 29) der von uns mittels PCR untersuchten Gewebeproben erfolgte der Nachweis einer Infektion mit mindestens einem der beiden genannten Typen. 41,4 % wiesen eine alleinige Infektion durch den HPV Typ 11 auf; in 37,9 % aller Fälle zählte der HPV Typ 6 verantwortlich für die Entstehung der RRP. In n=2 von 29 Fällen konnte eine Koinfektion mit HPV Typ 6 und HPV Typ 11 nachgewiesen werden. In einem Fall handelt es sich um einen auf drei HPV Stämme positiv getesteten Befund mit den HPV Typen 6/11/16.

Sowohl der HPV Typ 6 als auch der HPV Typ 11 werden nach der Klassifikation der IARC (2017) in der als nicht karzinogen beschriebenen Gruppe 3 der Risikoklassifikation für HPV Viren gelistet und somit typischerweise nicht in Zusammenhang mit maligner Entartung gebracht (Muñoz et al., 2003). Huebbers et al. (2013) berichten ebenso nur in Einzelfällen von kanzerösen Veränderungen durch die HPV Typen 11 und 6 bei zugrunde liegender RRP. Jedoch sollte die pathogene Potenz der HPV Typen 11 und 6 nicht unterschätzt werden: Denn gerade im Hinblick auf die zwar prinzipiell gutartigen, papillomatösen Wucherungen führt eine Infektion mit dem HPV Typ 11 zu besonders ausgedehnten und aggressiven, klinischen Verläufen einer RRP (Wiatrak et al., 2004).

In sporadischen Einzelfällen zählen die zumeist mit Karzinomen der Cervix oder oropharygealen Karzinomen in Verbindung gebrachten, als „high-risk“ klassifizierten HPV Typen 16 und 18 ebenfalls zu den Auslösern der Erkrankung (Carifi et al., 2015). In der von uns untersuchten Schar von n=29 Patienten wurde in n=1 Fall ein isolierter Befall durch den HPV Typ 16 nachgewiesen. In n=1 weiteren Fall imponierte eine Mischinfektion der Typen 6/11/16; bei n=1 weiteren Patienten eine andere mit den Typen 6/16/18/33/39/45/56 (siehe Ergebnis-Tabelle 12). Bei n=1 von 24 Patienten mit AORRP konnte der als „high-risk“ klassifizierte Typ

58 isoliert nachgewiesen werden. Insgesamt n=4 von 29 Patienten wurden aufgrund des statistisch erhöhten Risikos der Entstehung eines oropharygealen Karzinoms engmaschig auf etwaig auftretende, präkanzeröse Läsionen kontrolliert, da bei ihnen entweder ein oder sogar mehrere als „high-risk“ klassifizierte HPV Typen in Biopsien vorlagen.

Als überaus selten wird die Zahl an Larynxpapillomen beziffert, die durch die „high-risk“ HPV Typen 31 oder 33 ausgelöst werden. Das Risiko einer malignen Entartung bei einer RRP liege hier laut Derkay und Darrow (2006) im Mittel zwischen dem der „high-risk“ Typen 16/18 und dem der „low-risk“ Typen 6/11. In unserem juvenilen Kollektiv erfolgte in einem Einzelfall (n=1 von 5 Patienten mit JORRP) unter anderem der Nachweis von HPV 33 bei einer multiplen Infektion durch sieben HPV Typen.

### **4.3. Diskussion des Tübinger Therapieregimes der RRP**

Die in dieser Arbeit dargestellte Therapieform umfasst eine Trias aus operativer Ablation der Papillome mittels „Microdebrider“, die adjuvante, lokale und intraläsionale Applikation des Wirkstoffs Cidofovir sowie die adjuvante Impfung mit Gardasil®/Gardasil9®.

#### **4.3.1. Diskussion der operativen Technik**

Die schonende, operative Ablation der papillomatösen Wucherungen stellt nach wie vor weltweit den therapeutischen Goldstandard der RRP dar. Diesbezüglich stehen diverse chirurgische Verfahren zur Auswahl: kalte Instrumente wie beispielsweise der „Microdebrider“ und eine Vielzahl an Lasern (KTP-Laser, Argon-Laser, Flash-pump-Farbstofflaser, Nd:YAG-Laser). Hartnick et al. (2007) empfehlen die verwendete Methode auf die Lokalisation der Papillome abzustimmen.

Der in dieser Arbeit im wesentlichen verwendete „Microdebrider“ vereint folgende, vorteilhafte Eigenschaften: Durch den gebogenen Charakter des Instruments kann selbst in tieferen Regionen befindliches, befallenes Gewebe bei großer Anwendungssicherheit abgetragen und im Anschluss per Absaugung umgehend entfernt werden. Somit senkt dies die Gefahr einer potenziellen Verschleppung von HPV-Viren in angrenzendes, gesundes Gewebe. Gleichzeitig reduziert sich dadurch das Risiko des OP-Personals, den durch Laser-Abtragungen verursachten, durch vaporisierte HPV-Viren belasteten Rauch zu inhalieren. Zudem verkürzt sich die Operationszeit bei geringerem Personaleinsatz. Hartnick et al. (2007) berichten weiterhin von einer qualitativen Verbesserung der Sprache nach Verwendung des „Microdebriders“ sowie geringeren postoperativen Schmerzen bei gleichzeitiger Reduktion der Behandlungskosten. Gerade im Hinblick auf die in der Literatur beschriebenen kurzen, zeitlichen Intervalle zwischen den einzelnen Eingriffen, ergibt sich die entscheidende Notwendigkeit der schonenden, präzisen und dabei behutsamen Ablation der Papillome, wie sie bereits Armstrong et al. (1999) forderten, nachdem sie die Eingriffshäufigkeit bei Kindern allein im

ersten Jahr nach Diagnosestellung auf 4,4 operative Interventionen pro Jahr bezifferten.

#### **4.3.2. Adjuvante Injektion von Cidofovir**

Die adjuvante, intraläsionale Injektion des antiviral wirksamen Medikaments Cidofovir wurde in den vergangenen Jahren zunehmend in der Behandlung der RRP eingesetzt (Chadha & James 2012; Gazia et al., 2020; Pransky et al., 2003; Pudszuhn et al., 2006; Schraff et al., 2004). Zulassungskonform wird Cidofovir in der Behandlung der durch Cytomegalie hervorgerufenen Retinitis bei Patienten mit AIDS eingesetzt. Im Falle der RRP erfolgt dementsprechend der off-label Einsatz des Medikaments. Cidofovir vermindert unter anderem die Effizienz der Transkription viraler DNA und hemmt somit virales Wachstum. Der explizite Wirkmechanismus in Hinsicht auf die RRP ist bislang noch unklar.

Die beobachtete, positive Wirkung hinsichtlich des Behandlungsverlaufs der RRP ist Inhalt zahlreicher Fachpublikationen: So zeigten Gazia et al. (2020) in einer Übersichtsarbeit über den bisherigen Einsatz von Cidofovir auf, dass im Rahmen der adjuvanten Behandlung 74 Prozent der AORRP und 56,6 Prozent der JORRP Patienten auf das Adjuvanz ansprachen, ohne dass sich das Risiko laryngealer Dysplasien in einer der beiden Gruppen erhöhte. Adulte Patienten sprachen auf das Adjuvanz deutlicher besser an. In lediglich 1,48 Prozent der Fälle traten im Anschluss an die Behandlungen mit Cidofovir Dysplasien auf. Die Rate spontaner, maligner Entartung einer RRP, ausgelöst durch HPV 6 oder 11, liegt mit 2-3 Prozent höher. Die Arbeitsgruppe um Gazia et al. (2020) wies jedoch explizit darauf hin, dass sich bislang kein einheitliches Dosis- und Intervallschema in Bezug auf die lokale Anwendung von Cidofovir etablieren ließ.

Denn der Wirkstoff wird im Falle der RRP lokal in betroffene Areale injiziert und nicht systemisch eingebracht. Diese Form der Anwendung führt zu einem hohen lokalen Wirkspiegel bei gleichzeitig geringer, systemischer Belastung des Patienten (Naiman et al., 2003). Im Gegensatz zur systemischen Anwendung wurde

bei der lokalen Applikation von Cidofovir nur selten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen berichtet: So beschrieben nur Lee und Rosen (2004) bei n=3 von 23 Patienten Narbenbildungen an den Stimmlippen nach lokaler Anwendung, wohingegen bei 76,9 Prozent der mit Cidofovir als Adjuvanz behandelten Patienten eine drastische Reduktion der papillomatösen Läsionen zu verzeichnen war. Tjon Pian Gi et al. (2013) werteten in ihrer Übersichtsarbeit das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei n=635 behandelten Patienten aus und folgerten, die lokale, intraläsionale Anwendung von Cidofovir sei als sehr sicher einzustufen und es sei mit keiner signifikanten Erhöhung systemischer Nebenwirkungen selbst bei hoher Dosierung zu rechnen. So wurden in den vergangenen 20 Jahren unterschiedliche Konzentration zwischen 2,5 mg/ml bis zu 15 mg/ml eingesetzt. Die mittlere Dosis betrug 7,5 mg/ml (Gazia et al., 2020).

Bei den von uns therapierten n=29 Patienten wurde bei insgesamt 93,1 Prozent Cidofovir als lokales, intraläsionales Adjuvanz additiv zur operativen Ablation der Papillome eingesetzt. Im Mittel wurden 1,5 Injektionen pro Patient vorgenommen (min: 1; max: 6; SD: 1,48). Die Anzahl der Anwendungen rangiert im unteren Drittel der von Gazia et al. (2020) bezifferten Rate: Über 20 Studien hinweg wurden hier durchschnittlich 6 Applikationen (min: 6; max: 13) je Patient beschrieben. Gazia et al. (2020) wiesen jedoch gleichsam daraufhin, dass der exzessive Gebrauch von Cidofovir in der Therapie der RRP ein aktuell überaus umstrittenes Thema in der „European Society of Laryngology“ sei. Ein umsichtiger Einsatz - selbst bei lokaler Anwendung ohne zu erwartende, hohe systemische Wirkstoffspiegel – ist geboten.

Bei n=2 von 29 Patienten wurde im gesamten Behandlungsverlauf kein Cidofovir angewandt. Es handelt sich um einen Fall mit nachgewiesenen HPV 11 Infektion und n=1 Patienten mit durch HPV 6 ausgelöster RRP. Beide Patienten wurden operativ versorgt und dreifach mit Gardasil® immunisiert. Im anschließenden Beobachtungszeitraum von bis zu 130 Monaten entwickelten sich bei keinem der beiden Patienten ein Rezidiv.

#### **4.4. Antikörperstatus bei RRP & Immunisierung mit Gardasil®**

Schon lange vor der Markteinführung der quadrivalenten HPV-Vakzine Gardasil® im September 2016, stellten Sameshima et al. (1997) fest, dass Patienten mit RRP trotz manifester Infektion mit Humanen Papillomaviren nur einen leicht seropositiven Antikörpertiter gegen HPV-Viren aufwiesen, dadurch jedoch keine ausreichende Immunantwort gegenüber dem Virus zu erwarten sei. Auch in allen von uns beobachteten und durch HT-PBNA ausgewerteten Kasuistiken zeigten die Patienten eine kaum über die Grenze der Seropositivität hinausragende Zahl neutralisierender Antikörper gegen den jeweiligen die Erkrankung auslösenden HPV Typ. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass auch bei unseren Patienten ein Erkennen des Virus durch das Immunsystem der Erkrankten stattgefunden hat; eine ausreichende, natürlich induzierte Immunantwort im Anschluss jedoch ausblieb und sich eine Toleranz gegenüber dem entsprechenden HPV Typ entwickelte wie sie auch Bonagura et al. (2010) beschrieben. Bonagura et al. (2010) vermuteten demnach als Ursprung der RRP einen komplexen Defekt der Immunantwort gegenüber dem Humanen Papillomavirus Typ 6 und 11. Die natürliche, effektive Kontrolle der Erkrankung durch den Wirt sei nahezu unmöglich, da das HPV Virus das Immunsystem geschickt manipuliere und so zu einer lokalen, chronischen HPV-induzierten Erkrankung führe.

Diese Hypothese untermauern die Ergebnisse der von uns durch die HT- PBNA analysierten Serumproben sowohl der adulten als auch der juvenilen Patienten. Demnach zeigten alle Patienten mit JORRP im Hinblick auf die die RRP auslösenden HPV Typen 6, 16 und 18 einen von Anfang an sehr niedrigen, jedoch seropositiven Ausgangstiter trotz aktiver, manifester, klinischer Erkrankung. Ebenso bestätigten sich die niedrigen, seropositiven Antikörpertiter in der Gruppe der AORRP bei den untersuchten HPV Typen 6, 16 und 18.

Dennoch zeigte sich im Gesamtkollektiv selbst beim höchsten, nachgewiesenen ED50-Basiswert des Titers neutralisierender Antikörper in Bezug auf HPV 6 in Höhe von 1717 (min: 145; Mittel: 434,4) eine symptomatische Manifestation der

RRP bei diesem Patienten. Da bislang noch keine Mindest-Konzentration protektiver neutralisierender Antikörper definiert werden konnte, die sicher vor dem primären oder erneuten lokalen Aufflammen einer latenten HPV-bedingten Infektion schützt, bedeutet dies im Umkehrschluss, dass selbst bei höheren positiven Ausgangswerten nicht von einem immunkompetenten Schutz gegen eine HPV-assoziierte Infektion ausgegangen werden darf und eine Impfung mittels Gardasil/Gardasil9® im Sinne einer Auffrischungsimpfung als adjuvante Therapieoption dem Patienten anzuraten wäre. Diese sollte dem Immunsystem des Betroffenen die entscheidende Unterstützung gewähren, um zukünftige Reinfektionen konsequenter und langfristig unterdrücken zu können.

In dem von uns behandelten Patientenkollektiv erhielten alle in die statistische Auswertung eingeschlossenen Patienten eine vollständige, wie vom Hersteller MSD (MSD, Gardasil9®, Fachinfo-Service, Stand Nov. 2021) sowie der StiKO empfohlene dreifache Immunisierung mit dem HPV-Impfstoff Gardasil/Gardasil9® im zeitlichen Impfabstand von 0, 2 und 6 Monaten. Bei insgesamt 89,6% der Gesamtgruppe konnte die Impfserie gemäß den Empfehlungen binnen eines Jahres nach Erstimpfung abgeschlossen werden. In der Gruppe der juvenilen Patienten erhielten 100% die drei Impfungen in den empfohlenen, zeitlichen Abständen, wodurch die maximale Wirksamkeit der Vakzine erreicht wurde. Auch wenn die RRP bisher noch keinen expliziten Einzug in die erweiterte Impfempfehlung der HPV-Vakzine Gardasil/Gardasil9® hielt, sollte dennoch vom Behandelnden ein besonderes Augenmerk auf die optimalen, zeitlichen Intervalle zwischen den Einzelimpfungen gelegt werden, um eine maximale Wirksamkeit des verabreichten Impfstoffs und dessen protektiven Langzeitschutz gegen ein Rezidiv einer HPV-assoziierten Erkrankung wie der RRP zu gewährleisten. Im Hinblick auf den Impfabstand zwischen der 1. und 2. Impfung mit im Mittel 2,1 Monaten wurde das vorgegebene Intervall eingehalten. Der Zeitpunkt der 3. Impfdosis war bei einzelnen Patienten verzögert. Denn der vollständige Abschluss der Impfserie mit Gabe der Einzeldosen zum jeweils optimalen Zeitpunkt sowie durch die dritten Vakzine sollte im Fokus der adjuvanten Impf-Bemühungen stehen.

Auf der Grundlage der Hypothese, dass die HPV-Impfung das Immunsystem Erkrankter in die Lage versetzt, das HPV Virus lokal zu begrenzen, richten Forschungsgruppen mit dem Behandlungs-Schwerpunkt RRP weltweit ihren Blick auf den therapeutischen Nutzen einer adjuvanten Gardasil®/Gardasil9® Impfung sowie die evidenzbasierte Evaluation des beobachteten, positiven Langzeit-Effekts (Ivancic et al., 2019; Mauz et al., 2018; Novakovic et al., 2017). Einzelkasuistiken (Baumanis, 2016) in der wissenschaftlichen Literatur und allen voran die für eine seltene Erkrankung wie die RRP vergleichsweise große Studienpopulation von n=13 mit Gardasil®/Gardasil9® geimpften Patienten durch Mauz et al. (2018) in einer 22-jährigen, retrospektiven Beobachtungsstudie zeigten den therapeutischen Gewinn durch die Immunisierung selbst bei manifester RRP. Mauz et al. (2018) beobachteten bei lediglich n=2 von 13 geimpften Patienten ein Rezidiv. Auch in dem in dieser Arbeit beobachteten, dreifach geimpften Gesamtkollektiv entwickelten sich bei nur bei n=12 von 29 Patienten (41,4%) erneut Papillome in einem Beobachtungszeitraum von im Mittel 90,76 Monaten (min: 37 Monate, max: 150 Monate). 58,6% (n=17 von 29 Patienten) blieben bis zum Ende des Nachbeobachtungszeitraums frei von Rezidiven. Jedoch konnte aufgrund der mangelnden Power keine statistische Signifikanztestung durchgeführt werden.

Die tendenzielle Verlängerung des Rezidivfreien Intervalls korreliert mit den von uns durch die HT-PBNA nachgewiesenen, zum Teil drastischen Anstiege der Titer neutralisierender Antikörper gegenüber den untersuchten HPV Typen 6, 16 und 18. So ließen sich in allen beobachteten Fällen Anstiege der ED-50-Konzentrationen verzeichnen.

Gerade die n=5 juvenilen Patienten sprachen auf die Auffrischimpfung mit sprunghaften, faktoriellen Veränderungen der Antikörpertiter an: So zeigte sich hinsichtlich des HPV 6 Antikörperstatus ein im Mittel faktorieller Anstieg um das 173,6-fache (min: 8,1-fach; max.: 661,8-fach) des Ausgangswerts. Bei HPV 16 stieg der ED50-Basiswert im Mittel um das 228,2-fache (min: 6,2-fach; max.: 923,1-fach) und bei HPV 18 um das 72,5-fache (min: 1,2-fach, max.: 325,9-fach)

an. Allerdings konnte auch hier statistisch keine schützende Mindest-Konzentration und keine minimale, faktorielle Veränderung nach Impfung evaluiert werden, die vor einer erneuten Reinfektion zuverlässig Sicherheit bietet. Die Höhe der benötigten Anzahl neutralisierender Antikörper für einen sicheren Schutz gegen lokale HPV-bedingte Reinfektionen scheint für jeden juvenilen Patienten individuell und sollte durch weiterreichende Studien evaluiert werden.

Auch die adulten Patienten zeigten durchgehend deutlich sichtbare Titeranstiege nach Abschluss der Impfserie gegenüber den ermittelten ED-50 Basiswerten nach Analyse durch die HT-PBNA. So zeigten sich faktorielle Veränderungen des Ausgangswerts neutralisierender Antikörper beim HPV Typ 6 im Mittel um das 34,9-fache (min: 1,4-fach, max.: 198,4-fach). Dennoch kann auch hier keine klare Grenze einer schützenden Mindest-Konzentration für adulte Patienten gezogen werden. Zudem standen geringere Titeranstiege nicht automatisch mit einem erhöhten Rezidivrisiko in Verbindung.

Hier bilden die von uns gesammelten und erzielten Ergebnisse einen entscheidenden Beitrag zur weiteren Entschlüsselung der Krankheitsgenese und Optimierung der RRP Therapie sowie zur Reduktion von Rezidiven – vor allem in Hinblick auf die adjuvante Impfung mit Gardasil/Gardasil9®, da davon ausgegangen werden sollte, dass prinzipiell jeder Patient – egal ob juvenil oder adult, egal ob mit hohem oder niedrigem ED-50 Basiswert neutralisierender Antikörper - von einer adjuvanten Impfung im Sinne einer Auffrischimpfung in hohem Maße profitieren könnte.

## 4.5 Ausblick

Eine prospektive Studie aus Australien durch Novakovic et al. (2017) zeigte bezüglich der JORRP durch gesteigerte Impfquoten von Kindern im Alter zwischen 9-12 Jahren eine signifikante Reduktion der Inzidenz der RRP binnen nur 4 Jahren von 0,16 pro 100000 im Jahre 2012 auf 0,02 pro 100000 im Jahr 2016. In Deutschland darf bereits in naher Zukunft auf ein Absinken der Inzidenz für die AORRP gehofft werden, da die StiKO im Juni 2018 die Impfempfehlung von Mädchen auf Jungen erweiterte. Dies träfe jedoch nicht für die JORRP zu, da die Impfung erst für Kinder ab 9 Jahren empfohlen wird und somit Neugeborene und jüngere Kinder aus dem Raster fallen. Ivancic et al. (2019) empfahlen dementsprechend, die Impfung mit Gardasil® sowohl als prophylaktische wie therapeutische Maßnahme bei der Therapie der RRP einzusetzen.

Bisher lagen die therapeutischen Hoffnungen darin, die Impfung könne einen weiteren zu Cidofovir additiven, adjuvanten Ansatz in der Behandlung der RRP darstellen. Möglicherweise rückt damit die Impfung in ihrer Bedeutung an die Stelle des ersten adjuvanten Behandlungsschrittes noch vor der Anwendung von Cidofovir. Aktuell existiert jedoch keine Studie, welche den therapeutischen Nutzen einer Impfung als Adjuvanz ohne begleitende, adjuvante Cidofovir Injektionen statistisch belegen könnte.

Ein dreiarmliges Studienprotokoll könnte demnach die adjuvanten Behandlungsalternativen bezüglich ihrer Ergebnisse evaluieren. Als Grundlage eines derartigen Studienaufbaus könnte die chirurgische Ablation der Papillome, gefolgt von drei möglichen adjuvanten Szenarien dienen. Variante eins: Patienten mit adjuvanter Cidofovir-Applikation. Variante zwei: Patienten mit adjuvanter Cidofovir-Therapie und Gardasil® Impfung. Variante drei: Patienten, die mit Gardasil® immunisiert werden ohne Cidofovir-Injektionen.

Wirtschaftlich betrachtet, zeigten Chesson et al. bereits 2008 auf, dass die Verhinderung einer RRP durch eine im Vergleich kostengünstige Impfung auch ge-

sundheitsökonomisch von entscheidender Wichtigkeit sei, um die hohen, jährlichen durch die Erkrankung verursachten Kosten für das Gesundheitssystem zu senken. Eine weiterreichende Forschung im Gebiet der adjuvanten Impfung mittels Gardasil/Gardasil9® stellt somit auch gesundheitsökonomisch für die Zukunft einen großen Gewinn in Form massiver Reduktion von Behandlungskosten dar.

Letztlich erlaubt die Weiterentwicklung und Verfeinerung der jetzigen Analysemethoden im Falle von durch das HPV-Virus verursachten Erkrankungen wie die „High-Throughput Pseudovirion-based Neutralization Assay“ (HT-PBNA) eine weitreichende Perspektive in der weiteren evidenzbasierten Evaluation von Therapieoptionen für Patienten mit RRP. Aktuell steht die Möglichkeit der Analyse noch nicht für den HPV Typ 11 zur Verfügung, der jedoch in der Genese vieler RRP-Fälle eine tragende Rolle spielt. So dominiert der HPV Typ 11 als alleinig auslösender HPV Typ in den von uns untersuchten Fällen in 37,9% aller Gesamtkasuistiken und stellt damit den zweithäufigsten die Erkrankung auslösenden HPV Typ. Eine Analyse der durch HPV 11 geschuldeten Fälle durch die HT-PBNA wäre zukünftig ein wichtiger Ansatzpunkt für noch tiefgreifendere Erkenntnisse zur positiven Wirkung und dem Nutzen einer adjuvanten HPV-Impfung im Falle einer Larynxpapillomatose.

Denn wie bereits die Darstellung der Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Meier in Kapitel 3.5.4 (Abbildung 7) grafisch darstellt: Nach einem Beobachtungszeitraum von 80 Monaten nach der 3. Impfung verzeichneten wir keine weiteren Rezidive bei allen behandelten und dreifach geimpften Patienten. Die weiteren Krankheitsverläufe zeigten nach dem 80. Monat nach Abschluss der Impfserie stabile Verläufe und lassen somit möglicherweise den berechtigten Verdacht auf eine hohe Rate an langfristig Rezidivfreien, wenn nicht sogar geheilten Patienten zu.

# 5. Zusammenfassung

## 5.1 Zusammenfassung

Die rezidivierend respiratorische Papillomatose (RRP) manifestiert sich als seltene, benigne Erkrankung des aerodigestiven Trakts vorzugsweise im Bereich des Larynx. Klinisch imponieren warzenartige Läsionen einhergehend mit zum Teil schweren, funktionellen Einschränkungen. Ursächlich zeichnen für die RRP lokale Infektionen mit Humanen Papillomaviren (HPV), zumeist Typ 6 und 11. Bisher zielte das therapeutische Procedere darauf ab, die hohe Rezidivrate zu reduzieren und gleichzeitig den Erhalt der strukturellen Funktionalität zu gewährleisten. Primärtherapie stellt die chirurgische Ablation dar. Sekundär kommen medikamentöse Adjuvanzen zum Einsatz, welche jedoch oftmals mit multiplen unerwünschten Arzneimittelwirkungen verbunden sind. Bislang konnte somit weder ein zufrieden stellender, therapeutischer Durchbruch mit langfristig, kurativer Perspektive und hoher Compliance, noch die Etablierung einer evidenzbasierten Behandlungsleitlinie erzielt werden.

Die Trias aus chirurgischer Ablation via „Microdebrider“, gefolgt von der adjuvanten, lokalen Injektion von Cidofovir sowie gleichzeitiger Impfung mit der gegen das HPV-Virus gerichteten Vakzine Gardasil®/Gardasil9® wurde in dieser Arbeit evaluiert. Die Hypothese dieser Arbeit besteht darin, dass die Impfung mit Gardasil®/Gardasil9® im Sinne einer Auffrischung des zuvor insuffizient agierenden Immunsystems den entscheidenden Beitrag zur immunologischen Kontrolle der ursächlich die Krankheit auslösenden HPV-Infektion darstellen könne. Somit ließe sich durch die Impfung bei sehr günstigem Nebenwirkungsprofil möglicherweise eine hohe, protektive Wirksamkeit gegen zukünftige Krankheitsschübe realisieren.

Von 2007-2020 wurden n=29 Patienten (n=5 JORRP, n=24 AORRP) behandelt. Nach 13 Jahre erfolgte eine retrospektive Analyse der Behandlungsergebnisse basierend auf dem klinischen Krankheitsverlauf sowie einer serologischen Antikörperanalyse durch „High-throuput Pseudovirionen-based Neutralization Assay“

(HT-PBNA) von Serumproben hinsichtlich des Antikörperstatus auf HPV-Viren vor Beginn der Impfserie mit Gardasil®/Gardasil 9® und nach deren Abschluss.

Die Ergebnisse dieser Auswertung bekräftigen gleich mehrere Annahmen: Denn bei n=28 von n=29 Patienten waren vor Beginn der Impfung nur sehr niedrig positive Antikörpertiter gegen das Virus nachweisbar, was für ein immunologisches Defizit im Hinblick auf HPV spricht. Nur bei n=1 von 29 Patienten lag ein erhöhter Ausgangstiter vor. Wohingegen im Verlauf und nach Abschluss der Impfserie bei knapp über der Hälfte der Patienten Titeranstiege neutralisierender Antikörper gegenüber HPV Viren im Sinne einer erfolgreichen Immunisierung zu verzeichnen waren. 58,6% Prozent aller Patienten blieben im Beobachtungszeitraum von im Mittel rund 90 Monaten Rezidivfrei.

Bislang erfolgte der Einsatz des Impfstoffs Gardasil®/Gardasil9® bei der RRP als „off-label“ Anwendung. Eine Erweiterung der Indikation des Impfstoffs Gardasil®/Gardasil9® wäre somit denkbar.

Die adjuvante Impfung stellt somit einen wichtigen und potenten therapeutischen Ansatz dar, da sie am Ursprung der Erkrankung und nicht bei der Symptomkontrolle der RRP ansetzt. Die in dieser Arbeit beobachteten positiven, klinischen Verläufe nach Vakzinierung müssen durch weiterreichende Studienprotokolle hinsichtlich des therapeutischen Nutzens der Gardasil®/Gardasil9® Impfung für Patienten mit RRP untermauert werden.

## 5.2. Abstract

Recurrent respiratory papillomatosis (RRP) manifests as a seldom, benign illness of the aerodigestive tract, primarily in the area of the larynx. Clinically, wart-like lesions are associated with sometimes severe functional limitations. Local infections with human papillomaviruses (HPV), in most cases caused by types 6 and 11, induce the RRP. So far, the therapeutic procedure has been aimed at reducing the high rate of recurrence and at the same time guaranteeing the retention of structural functionality. The primary therapy is surgical ablation. Secondly, medicinal adjuvants are used, which, however, are often associated with multiple adverse drug effects. So far, neither a satisfactory, therapeutic breakthrough with a long-term, curative perspective and high compliance, nor the establishment of an evidence-based treatment guideline has been achieved.

A triad of surgical ablation via microdebrider, followed by adjuvant, local injection of cidofovir and, at the same time, vaccination with the anti-HPV virus Vaccine Gardasil®/Gardasil9® was investigated in this study.

This study investigates the hypothesis that vaccination with Gardasil®/Gardasil9® contributes to the immunological control of the HPV infection by boosting the previously insufficiently acting immune system. Thus, with a very favorable side effect profile, the vaccination may possibly achieve a high, protective effectiveness against future flare-ups.

From 2007-2020 n = 29 patients were treated in the cohort of this study (n = 5 JORRP, n = 24 AORRP). A retrospective analysis evaluated their outcome based on the clinical course of the disease and a serological antibody analysis using a high-throughput pseudovirus-based neutralization assay (HT-PBNA) of serum samples with regard to the antibody status for HPV viruses before the start of the Gardasil vaccination series® / Gardasil 9® and after their completion.

The results of this evaluation confirm several assumptions. In all n = 29 patients, only very low positive antibody titers against the virus were detectable before the

start of the vaccination, which speaks for an immunological deficit with regard to HPV. In contrast, in the course of and after the end of the series of vaccinations, significant increases in the titre of neutralizing antibodies against HPV viruses in the sense of a successful booster reaction were recorded. Furthermore, 58.6% percent of all patients remained free of recurrences during the observation period of around 90 months on average.

So far, the use of the vaccine Gardasil®/Gardasil9® at RRP has been an “off-label” application. An extension of the indication of the vaccine Gardasil®/Gardasil9® would therefore be conceivable.

The adjuvant vaccination may represent a therapeutic approach, since it represents a causal treatment as opposed to symptomatic control of the RRP. There is no doubt that the positive clinical progress we have observed after vaccination should be supported by more extensive study protocols regarding the therapeutic benefits of the Gardasil®/Gardasil9® vaccination for patients with RRP.

## 6. Literaturverzeichnis

(alphabetisch, nach APA-Richtlinien, 7. Auflage)

- Akagi, K., Li, J., Broutian, T. R., Padilla-Nash, H., Xiao, W., Jiang, B., Rocco, J. W., Teknos, T. N., Kumar, B., Wangsa, D., He, D., Ried, T., Symer, D. E. & Gillison, M. L. (2013). Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome Research*, 24(2), 185–199. <https://doi.org/10.1101/gr.164806.113>
- Andratschke, M., Betz, C. & Leunig, A. (2008). Larynxpapillomatose. *HNO*, 56(12), 1190–1196. <https://doi.org/10.1007/s00106-008-1711-4>
- Andratschke, M., Hagedorn, H. & Nerlich, A. G. (2015). HPV-Infektion in oralen, pharyngealen und laryngealen Papillomen. *HNO*, 63(11), 768–772. <https://doi.org/10.1007/s00106-015-0079-5>
- Anic, G. M. & Giuliano, A. R. (2011). Genital HPV infection and related lesions in men. *Preventive Medicine*, 53, S36–S41. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.08.002>
- Arbyn, M., Xu, L., Simoens, C. & Martin-Hirsch, P. P. (2018). Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2–3. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd009069.pub3>
- Armstrong, L. R., Derkay, C. S. & Reeves, W. C. (1999). Initial Results From the National Registry for Juvenile-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 125(7), 743–748. <https://doi.org/10.1001/archotol.125.7.743>
- Baumanis, M. M. & Elmaraghy, C. A. (2016). Intersurgical interval increased with use of quadrivalent human papillomavirus vaccine (Gardasil) in a pediatric patient with recurrent respiratory papillomatosis: A case report. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 91, 166–169. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.10.032>
- Bernard, H. U., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., Hausen, H. Z. & de Villiers, E. M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 401(1), 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>
- Best, S. R., Friedman, A. D., Landau-Zemer, T., Barbu, A. M., Burns, J. A., Freeman, M. W., Halvorsen, Y. D., Hillman, R. E. & Zeitels, S. M. (2012). Safety and Dosing of Bevacizumab (Avastin) for the Treatment of Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 121(9), 587–593. <https://doi.org/10.1177/000348941212100905>

- Bonaguera, V. R., Hatam, L. J., Rosenthal, D. W., de Voti, J. A., Lam, F., Steinberg, B. M. & Abramson, A. L. (2010). Recurrent respiratory papillomatosis: a complex defect in immune responsiveness to human papillomavirus-6 and -11. *APMIS*, 118(6–7), 455–470. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02617.x>
- Bosch, F. X., Manos, M. M., Munoz, N., Sherman, M., Jansen, A. M., Peto, J., Schiffman, M. H., Moreno, V., Kurman, R. & Shan, K. V. (1995). Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: a Worldwide Perspective. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 87(11), 796–802. <https://doi.org/10.1093/jnci/87.11.796>
- Buchinsky, F. J., Donfack, J. & Derkay, C. S. (2008). Age of Child, More than HPV Type, Is Associated with Clinical Course in Recurrent Respiratory Papillomatosis. *PLoS ONE*, 3(5), e2263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002263>
- Carifi, M., Napolitano, D., Morandi, M. & Dall’Olio, D. (2015). Recurrent respiratory papillomatosis: current and & future perspectives. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 731. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s81825>
- Chadha, N. K. & James, A. (2012). Adjuvant antiviral therapy for recurrent respiratory papillomatosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1–16. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd005053.pub4>
- Chesson, H. W., Forhan, S. E., Gottlieb, S. L. & Markowitz, L. E. (2008). The potential health and economic benefits of preventing recurrent respiratory papillomatosis through quadrivalent human papillomavirus vaccination. *Vaccine*, 26(35), 4513–4518. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.06.045>
- de Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D. & Plummer, M. (2012). Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, 13(6), 607–615. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70137-7](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70137-7)
- de Martel, C., Plummer, M., Vignat, J. & Franceschi, S. (2017). Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal of Cancer*, 141(4), 664–670. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>
- Dedo, H. H. & Yu, K. C. Y. (2001). CO2 Laser Treatment in 244 Patients with Respiratory Papillomas. *The Laryngoscope*, 111(9), 1639–1644. <https://doi.org/10.1097/00005537-200109000-00028>
- Derkay, C. S. (2001). Recurrent Respiratory Papillomatosis. *The Laryngoscope*, 111(1), 57–69. <https://doi.org/10.1097/00005537-200101000-00011>

- Derkay, C. S. & Bluher, A. E. (2019). Update on Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 52(4), 669–679. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2019.03.011>
- Derkay, C. S. & Darrow, D. H. (2006). Seminar Series Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 115(1), 1–11. <https://doi.org/10.1177/000348940611500101>
- Derkay, C. S. & Wiatrak, B. (2008). Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Review. *The Laryngoscope*, 118(7), 1236–1247. <https://doi.org/10.1097/mlg.0b013e31816a7135>
- Förster, G., Boltze, C., Seidel, J., Pawlita, M. & Müller, A. (2008). Juvenile Larynxpapillomatose – Impfung mit dem polyvalenten Spaltimpfstoff Gardasil®. *Laryngo-Rhino-Otologie*, 87(11), 796–799. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1077527>
- Gallagher, T. Q. & Derkay, C. S. (2008). Recurrent respiratory papillomatosis: update 2008. *Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery*, 16(6), 536–542. <https://doi.org/10.1097/moo.0b013e328316930e>
- Gallagher, T. Q. & Derkay, C. S. (2009). Pharmacotherapy of recurrent respiratory papillomatosis: an expert opinion. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 10(4), 645–655. <https://doi.org/10.1517/14656560902793530>
- Gazia F, Galletti B, Freni F, Bruno R, Sireci F, Galletti C, Meduri A, Galletti F (2020). Use of intralesional cidofovir in the recurrent respiratory papillomatosis: a review of the literature. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Jan;24(2):956-962. doi: 10.26355/eurrev\_202001\_20081. PMID: 32017003.
- Gerein, V., Rastorguev, E., Gerein, J., Jecker, P. & Pfister, H. (2005). Use of Interferon-Alpha in Recurrent Respiratory Papillomatosis: 20-Year Follow-up. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 114(6), 463–471. <https://doi.org/10.1177/000348940511400608>
- Gissmann, L., Diehl, V., Schultz-Coulon, H. J. & zur Hausen, H. (1982). Molecular cloning and characterization of human papilloma virus DNA derived from a laryngeal papilloma. *Journal of Virology*, 44(1), 393–400. <https://doi.org/10.1128/jvi.44.1.393-400.1982>
- Goon, P., Sonnex, C., Jani, P., Stanley, M. & Sudhoff, H. (2007). Recurrent respiratory papillomatosis: an overview of current thinking and treatment. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 265(2), 147–151. <https://doi.org/10.1007/s00405-007-0546-z>
- Graham, S. (2017). The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical Science*, 131(17), 2201–2221. <https://doi.org/10.1042/cs20160786>

- Graham, S. V. & Faizo, A. A. A. (2017). Control of human papillomavirus gene expression by alternative splicing. *Virus Research*, 231, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.11.016>
- Harcourt, J., Worley, G. & Leighton, S. (1999). Cimetidine treatment for recurrent respiratory papillomatosis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 51(2), 109–113. [https://doi.org/10.1016/s0165-5876\(99\)00279-7](https://doi.org/10.1016/s0165-5876(99)00279-7)
- Hartnick, C. J., Boseley, M. E., Franco, R. A., Cunningham, M. J. & Pransky, S. (2007). Efficacy of Treating Children with Anterior Commissure and True Vocal Fold Respiratory Papilloma With the 585-nm Pulsed-Dye Laser. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 133(2), 127. <https://doi.org/10.1001/archotol.133.2.127>
- Huebbers, C. U., Preuss, S. F., Kolligs, J., Vent, J., Stenner, M., Wieland, U., Silling, S., Drebber, U., Speel, E. J. M. & Klussmann, J. P. (2013). Integration of HPV6 and Downregulation of AKR1C3 Expression Mark Malignant Transformation in a Patient with Juvenile-Onset Laryngeal Papillomatosis. *PLoS ONE*, 8(2), e57207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057207>
- Iftner, T., Eberle, S., Iftner, A., Holz, B., Banik, N., Quint, W. & Straube, A. N. (2010). Prevalence of low-risk and high-risk types of human papillomavirus and other risk factors for HPV infection in Germany within different age groups in women up to 30 years of age: An epidemiological observational study. *Journal of Medical Virology*, 82(11), 1928–1939. <https://doi.org/10.1002/jmv.21910>
- Ivancic, R., Iqbal, H., deSilva, B., Pan, Q. & Matrka, L. (2019). Immunological tolerance of low-risk HPV in recurrent respiratory papillomatosis. *Clinical & Experimental Immunology*, 199(2), 131–142. <https://doi.org/10.1111/cei.13387>
- Kashima, H. K., Shah, F., Lyles, A., Glackin, R., Muhammad, N., Turner, L., Zandt, S. V., Whitt, S. & Shah, K. (1992). A Comparison of Risk Factors in Juvenile-Onset and Adult-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis. *The Laryngoscope*, 102(1), 9-13. <https://doi.org/10.1288/00005537-199201000-00002>
- Kimberlin, D. (2004). Current status of antiviral therapy for juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. *Antiviral Research*, 63(3), 141–151. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2004.06.013>
- Kines, R. C., Thompson, C. D., Lowy, D. R., Schiller, J. T. & Day, P. M. (2009). The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48), 20458–20463. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908502106>

- Kumar, N. & Preciado, D. (2019). Airway Papillomatosis: New Treatments for an Old Challenge. *Frontiers in Pediatrics*, 7. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00383>
- Kosko, J. R. & Derkay, C. S. (1996). Role of cesarean section in prevention of recurrent respiratory papillomatosis — Is there one? *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 35(1), 31–38. [https://doi.org/10.1016/0165-5876\(95\)01279-6](https://doi.org/10.1016/0165-5876(95)01279-6)
- Larson, D. A. & Derkay, C. S. (2010). Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. *APMIS*, 118(6–7), 450–454. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02619>
- Lee, A. S. & Rosen, C. A. (2004). Efficacy of cidofovir injection for the treatment of recurrent respiratory papillomatosis. *Journal of Voice*, 18(4), 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2003.07.007>
- Lie, E. S., Engh, V., Boysen, M., Clausen, O. P. F., Kvernfold, H., Stenersen, T. C. & Winther, F. M. (1994). Squamous Cell Carcinoma of the Respiratory Tract Following Laryngeal Papillomatosis. *Acta Oto-Laryngologica*, 114(2), 209–212. <https://doi.org/10.3109/00016489409126044>
- Limsukon, A., Susanto, I., Soo Hoo, G. W., Dubinett, S. M. & Batra, R. K. (2009). Regression of Recurrent Respiratory Papillomatosis with Celecoxib and Erlotinib Combination Therapy. *Chest*, 136(3), 924–926. <https://doi.org/10.1378/chest.08-2639>
- Long, Y. T. & Sani, A. (2003). Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Asian Journal of Surgery*, 26(2), 112–116. [https://doi.org/10.1016/s1015-9584\(09\)60231-1](https://doi.org/10.1016/s1015-9584(09)60231-1)
- Marfatia, Y., Singhal, P. & Naswa, S. (2009). Pregnancy and sexually transmitted viral infections. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, 30(2), 71. <https://doi.org/10.4103/0253-7184.62761>
- Maunsell, R. & Bellomo-Brandão, M. A. (2017). Pegylated interferon for treating severe recurrent respiratory papillomatosis in a child: case report. *Sao Paulo Medical Journal*, 136(4), 376–381. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2017.0031240317>
- Mauz, P. S., Schäfer, F. A., Iftner, T. & Gonser, P. (2018). HPV vaccination as preventive approach for recurrent respiratory papillomatosis - a 22-year retrospective clinical analysis. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3260-0>
- Mauz, P. S., Zago, M., Kurth, R., Pawlita, M., Holderried, M., Thiericke, J., Iftner, A., Stubenrauch, F., Sotlar, K. & Iftner, T. (2014). A case of recurrent

respiratory papillomatosis with malignant transformation, HPV11 DNAemia, high L1 antibody titre and a fatal papillary endocardial lesion. *Virology Journal*, 11(1), 114. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-11-114>

- McDonald, E., Mann, A. & Thomas, H. (1987). INTERFERONS AS MEDIATORS OF PSYCHIATRIC MORBIDITY. *The Lancet*, 330(8569), 1175–1178. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)91319-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)91319-5)
- McKenna, M. & Brodsky, L. (2005). Extraesophageal acid reflux and recurrent respiratory papilloma in children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 69(5), 597–605. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2004.11.021>
- Mounts, P., Shah, K. V. & Kashima, H. (1982). Viral etiology of juvenile- and adult-onset squamous papilloma of the larynx. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(17), 5425–5429. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.17.5425>
- Mudry, P., Vavrina, M., Mazanek, P., Machalova, M., Litzman, J. & Sterba, J. (2011). Recurrent laryngeal papillomatosis: successful treatment with human papillomavirus vaccination. *Archives of Disease in Childhood*, 96(5), 476–477. <https://doi.org/10.1136/adc.2010.198184>
- Muñoz, N., Bosch, F. X., de Sanjosé, S., Herrero, R., Castellsagué, X., Shah, K. V., Snijders, P. J. & Meijer, C. J. (2003). Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *New England Journal of Medicine*, 348(6), 518–527. <https://doi.org/10.1056/nejmoa021641>
- Naiman, A. N., Ceruse, P., Coulombeau, B. & Froehlich, P. (2003). Intralesional Cidofovir and Surgical Excision for Laryngeal Papillomatosis. *The Laryngoscope*, 113(12), 2174–2181. <https://doi.org/10.1097/00005537-200312000-00024>
- Novakovic, D., Cheng, A. T. L., Zurynski, Y., Booy, R., Walker, P. J., Berkowitz, R., Harrison, H., Black, R., Perry, C., Vijayasekaran, S., Wabnitz, D., Burns, H., Tabrizi, S. N., Garland, S. M., Elliott, E. & Brotherton, J. M. L. (2017). A Prospective Study of the Incidence of Juvenile-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis After Implementation of a National HPV Vaccination Program. *The Journal of Infectious Diseases*, 217(2), 208–212. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix498>
- Newfield L, Goldsmith A, Bradlow HL, Auburn K. (1993) Estrogen metabolism and human papillomavirus-induced tumors of the larynx: chemoprophylaxis with indole-3-carbinol. *Anticancer Res.* 1993 Mar-Apr;13(2):337-41. PMID: 8390800.
- Nunez, D. A., Astley, S. M., Lewis, F. A. & Wells, M. (1994). Human papilloma viruses: a study of their prevalence in the normal larynx. *The Journal of*

Laryngology & Otology, 108(4), 319–320.  
<https://doi.org/10.1017/s0022215100126647>

Orji, F. T., Okorafor, I. A. & Akpeh, J. O. (2012). Experience With Recurrent Respiratory Papillomatosis in a Developing Country: Impact of Tracheostomy. *World Journal of Surgery*, 37(2), 339–343.  
<https://doi.org/10.1007/s00268-012-1839-y>

Ozbun, M. A. (2019). Extracellular events impacting human papillomavirus infections: Epithelial wounding to cell signaling involved in virus entry. *Papillomavirus Research*, 7, 188–192.  
<https://doi.org/10.1016/j.pvr.2019.04.009>

Patel, N., Rowe, M. & Tunkel, D. (2003). Treatment of Recurrent Respiratory Papillomatosis in Children with the Microdebrider. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 112(1), 7–10.  
<https://doi.org/10.1177/000348940311200102>

Pawlita, M. & Gissmann, L. (2009). Rekurrierende respiratorische Papillomatose. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 134(S 02), S100–S102. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1220219>

Pransky, S. M., Albright, J. T. & Magit, A. E. (2003). Long-Term Follow-Up of Pediatric Recurrent Respiratory Papillomatosis Managed with Intralesional Cidofovir. *The Laryngoscope*, 113(9), 1583–1587.  
<https://doi.org/10.1097/00005537-200309000-00032>

Pudszuhn, A., Welzel, C., Bloching, M. & Neumann, K. (2006). Intralesional Cidofovir application in recurrent laryngeal papillomatosis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 264(1), 63–70.  
<https://doi.org/10.1007/s00405-006-0151-6>

Quick, C. A., Krzyzek, R. A., Watts, S. L. & Faras, A. J. (1980). Relationship between Condylomata and Laryngeal Papillomata. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 89(5), 467–471.  
<https://doi.org/10.1177/000348948008900521>

Raff, A. B., Woodham, A. W., Raff, L. M., Skeate, J. G., Yan, L., da Silva, D. M., Schelhaas, M. & Kast, W. M. (2013). The Evolving Field of Human Papillomavirus Receptor Research: a Review of Binding and Entry. *Journal of Virology*, 87(11), 6062–6072. <https://doi.org/10.1128/jvi.00330-13>

Renault, P. & Hoofnagle, J. (1989). Side Effects of Alpha Interferon. *Seminars in Liver Disease*, 9(04), 273–277. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1040523>

Riede, U. & Werner, M. (2017). *Allgemeine und Spezielle Pathologie (Springer-Lehrbuch) (2. Aufl.)*. Springer.

- Rihkanen, H., Aaltonen, L. M. & Syrjänen, S. (1993). Human papillomavirus in laryngeal papillomas and in adjacent normal epithelium. *Clinical Otolaryngology*, 18(6), 470–474. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2273.1993.tb00616.x>
- Rosen, C. A. & Bryson, P. C. (2004). Indole-3-Carbinol for recurrent respiratory papillomatosis: long-term results. *Journal of Voice*, 18(2), 248–253. <https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2003.05.005>
- Sameshima, A., Fujiyoshi, T., Pholampaisathit, S., Ushikai, M., Kono, M., Antarasena, S., Fukuda, K., Furata, S., Sonoda, S. & Ohyama, M. (1997). Demonstration of antibodies against human papillomavirus type-11 E6 and L2 proteins in patients with recurrent respiratory papillomatosis. *Auris Nasus Larynx*, 24(2), 185–191. [https://doi.org/10.1016/s0385-8146\(96\)00000-4](https://doi.org/10.1016/s0385-8146(96)00000-4)
- San Giorgi, M. R., de Groot, O. S. & Dikkers, F. G. (2017). Quality and readability assessment of websites related to recurrent respiratory papillomatosis. *The Laryngoscope*, 127(10), 2293–2297. <https://doi.org/10.1002/lary.26521>
- Schraff, S., Derkay, C. S., Burke, B. & Lawson, L. (2004). American Society of Pediatric Otolaryngology Members' Experience with Recurrent Respiratory Papillomatosis and the Use of Adjuvant Therapy. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 130(9), 1039. <https://doi.org/10.1001/archotol.130.9.1039>
- Sehr, P., Rubio, I., Seitz, H., Putzker, K., Ribeiro-Müller, L., Pawlita, M. & Müller, M. (2013). High-Throughput Pseudovirion-Based Neutralization Assay for Analysis of Natural and Vaccine-Induced Antibodies against Human Papillomaviruses. *PLoS ONE*, 8(10), e75677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075677>
- Silver, R. D., Rimell, F. L., Adams, G. L., Derkay, C. S. & Hester, R. (2003). Diagnosis and Management of Pulmonary Metastasis from Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 129(6), 622–629. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2003.08.018>
- Soldatski, I. L., Onufrieva, E. K., Steklov, A. M. & Schepin, N. V. (2005). Tracheal, Bronchial, and Pulmonary Papillomatosis in Children. *The Laryngoscope*, 115(10), 1848–1854. <https://doi.org/10.1097/01.mlg.0000173155.57491.2a>
- Stern, Y., Filipovich, A., Cotton, R. T. & Segal, K. (2007). Immunocompetency in Children with Recurrent Respiratory Papillomatosis: Prospective Study. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 116(3), 169–171. <https://doi.org/10.1177/000348940711600302>

- Syrjänen, S. (2018). Oral manifestations of human papillomavirus infections. *European Journal of Oral Sciences*, 126(S1), 49–66. <https://doi.org/10.1111/eos.12538>
- Tanna, N., Sidell, D., Joshi, A. S. & Bielamowicz, S. A. (2008). Adult Intrale-sional Cidofovir Therapy for Laryngeal Papilloma. *Archives of Otolaryngol-ogy–Head & Neck Surgery*, 134(5), 497. <https://doi.org/10.1001/archotol.134.5.497>
- Tenti, P. (1999). Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstetrics & Gynecology*, 93(4), 475–479. [https://doi.org/10.1016/s0029-7844\(98\)00459-1](https://doi.org/10.1016/s0029-7844(98)00459-1)
- Tjon Pian Gi, R. E. A., Ilmarinen, T., van den Heuvel, E. R., Aaltonen, L. M., Andersen, J., Brunings, J. W., Chirila, M., Dietz, A., Ferran Vilà, F., Friedrich, G., de Gier, H. H. W., Goluzinski, W., Graupp, M., Hantzakos, A., Horcasitas, R., Jackowska, J., Koelmel, J. C., Lawson, G., Lindner, F., . . . Dikkers, F. G. (2013). Safety of intralesional cidofovir in patients with recurrent respiratory papillomatosis: an international retrospective study on 635 RRP patients. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 270(5), 1679–1687. <https://doi.org/10.1007/s00405-013-2358-7>
- Tjon Pian Gi, R. E. A., San Giorgi, M. R. M., Slagter-Menkema, L., van Hemel, B. M., van der Laan, B. F. A. M., van den Heuvel, E. R., Dikkers, F. G. & Schuurin, E. M. (2014). Clinical course of recurrent respiratory papilloma-tosis: Comparison between aggressiveness of human papillomavirus-6 and human papillomavirus-11. *Head & Neck*, 37(11), 1625–1632. <https://doi.org/10.1002/hed.23808>
- Torrente, M. C., Rodrigo, J. P., Haigentz, M., Dikkers, F. G., Rinaldo, A., Takes, R. P., Olofsson, J. & Ferlito, A. (2011). Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head & Neck*, 33(4), 581–586. <https://doi.org/10.1002/hed.21421>
- Uloza, V. (2000). The course of laryngeal papillomatosis treated by endolaryngeal microsurgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 257(9), 498–501. <https://doi.org/10.1007/s004050000273>
- Tota, J. E., Gillison, M. L., Katki, H. A., Kahle, L., Pickard, R. K., Xiao, W., Jiang, B., Graubard, B. I. & Chaturvedi, A. K. (2019). Development and validation of an individualized risk prediction model for oropharynx cancer in the US population. *Cancer*, 125(24), 4407–4416. <https://doi.org/10.1002/cncr.32412>
- Uloza, V. (2000). The course of laryngeal papillomatosis treated by endolaryngeal microsurgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 257(9), 498–501. <https://doi.org/10.1007/s004050000273>

- Vambutas A, Di Lorenzo TP, Steinberg BM (1993). Laryngeal papilloma cells have high levels of epidermal growth factor receptor and respond to epidermal growth factor by a decrease in epithelial differentiation. *Cancer Res.* 1993 Feb 15;53(4):910-4. PMID: 7679053.
- Venkatesan, N. N., Pine, H. S. & Underbrink, M. P. (2012). Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 45(3), 671–694. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2012.03.006>
- Wiatrak, B. J., Wiatrak, D. W., Broker, T. R. & Lewis, L. (2004). Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Longitudinal Study Comparing Severity Associated with Human Papilloma Viral Types 6 and 11 and Other Risk Factors in a Large Pediatric Population. *The Laryngoscope*, 114(S104), 1–23. <https://doi.org/10.1097/01.mlg.000148224.83491.0f>
- Wu, R., Abramson, A. L., Shikowitz, M. J., Dannenberg, A. J. & Steinberg, B. M. (2005). Epidermal Growth Factor–Induced Cyclooxygenase-2 Expression Is Mediated through Phosphatidylinositol-3 Kinase, Not Mitogen-Activated Protein/Extracellular Signal-Regulated Kinase Kinase, in Recurrent Respiratory Papillomas. *Clinical Cancer Research*, 11(17), 6155–6161. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-04-2664>
- Yang QW, Xu W, Guo W, Cui WX, Li YR, Wang XY, Yang J, Li XY (2017) [A retrospective analysis of CO(2) laser and microdebrider for the treatment of severe juvenile on-set recurrent respiratory papillomatosis]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2017 Oct 7;52(10):733-737. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2017.10.004. PMID: 29050089.

## 7. Erklärung zum Eigenanteil

„Hiermit erkläre ich, dass ich die an der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen eingereichte Dissertationsschrift „Retrospektive, pseudonomysierte, serologische Antikörperanalyse von Serumproben im Rahmen der Standarddiagnostik der Rezidivierenden Respiratorischen Papillomatose hinsichtlich des Antikörperstatus auf Humanes Papilloma Virus (HPV)“ selbstständig und ohne zu Hilfenahme anderer, unzulässiger Hilfsmittel verfasst habe. Die Betreuung erfolgte durch Professor Dr. Hubert Löwenheim. Die Konzeption und Ausarbeitung der Daten wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Paul-Stefan Mauz sowie PD Dr. Phillip Gonser, beide HNO-Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt. Ebenso beteiligt war Dr. Michael Pawlita, Abteilungsleiter der molekularen Diagnostik onkogener Infektionen am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg, der die serologische Analyse der Antikörper der Serumproben ausführte.

Die statistische Auswertung erfolgte nach vorangegangener Beratung durch Professor Dr. rer. nat. Peter Martus, Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen.

Jegliche herangezogenen Quelle habe ich ausdrücklich gekennzeichnet und inhaltliche sowie sinngemäße oder wörtlich zitierte Angaben deutlich kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten Arbeiten habe ich mich stets an den Leitlinien guter wissenschaftlicher Praxis orientiert und weder ethische noch den Daten- oder Tierschutz betreffende Grundsätze gebrochen oder missachtet.

Es besteht kein anderes Promotionsverfahren als dieses hier an der Medizinischen Fakultät Tübingen vorgelegte. Diese Dissertationsschrift wurde weder in Auszügen noch in Abwandlungen oder gar gleicher Weise zur Promotion an einem anderen Ort, weder im In- noch Ausland, vorgelegt. Es wurden keinerlei andere Prüfungsverfahren jeglicher Art beantragt. Es erfolgte kein Lektoratservice.

Ich ziehe aus dieser Promotion keinerlei privaten oder gewerblichen, mittel- oder unmittelbaren finanziellen Vorteile. Mir wurde von Dritten kein Entgelt für Tätigkeiten offeriert, die mit dieser Arbeit in Zusammenhang stehen. Ebenso wenig habe ich Personen oder Organisationen beauftragt, damit jene diese Promotio-  
nsschrift in Gänze oder auch nur in Teilen für mich anfertigen. Jegliche Personen, die im Rahmen der Entstehung dieser Dissertation beteiligt waren, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Weder aktuell noch in der Vergangenheit wurde je ein Strafverfahren gegen mich eingeleitet.

Ich bin mir bewusst, dass fehlerhafte oder lückenhafte Dokumentationen innerhalb dieser Schrift dazu führen können, dass mir möglicherweise ein bereits verliehener akademischer Grad nachträglich entzogen werden könnte. Aus diesem Grund gebe ich hiermit einer Überprüfung meiner Dissertation mittels Software zur Erkennung von Plagiaten meine Zustimmung.

Tübingen, den

---

## 8. Danksagung

Meinen besonderen Dank möchte ich der exzellenten Betreuung meiner Dissertation durch die HNO-Universitätsklinik Tübingen aussprechen:

Meinem Doktorvater Professor Dr. Hubert Löwenheim für seine große Unterstützung. Herrn Dr. med. Paul-Stefan Mauz für die Inspiration zu diesem spannenden, fächerübergreifenden Thema sowie die herausragende Betreuung im Rahmen dieser Publikation. Ich danke PD Dr. med. Phillipp Gonser, dass er seine Begeisterung für den Fachbereich an mich weitergegeben, mich jederzeit motiviert und mit konstruktiver Unterstützung begleitet hat: von der Erstellung dieser Arbeit bis zu deren Korrektur. Bei Danika Schlicht und allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des HNO-Klinikums Tübingen für ihre stets prompte, logistische Hilfe bei der Sortierung der Patientenproben.

Ich danke Herrn Dr. Michael Pawlita vom DKFZ Heidelberg für seine methodische Unterstützung und Analyse der Serumproben. Für seine Gelassenheit, Ruhe und den großen Erfahrungsschatz im Umgang mit dem Probenmaterial.

Ich bedanke mich bei Professor Dr. Thomas Iftner für die Unterstützung beim Verständnis der Datenanalyse des Antikörperstatus sowie der fachlich herausragenden Kommentare.

Professor Peter Martus danke ich für die freundliche und umfassend kompetente, sowie stets konstruktive Unterstützung in der Auswertung der statistischen Daten und für die Anfertigung der Kaplan-Meier-Kurve.

Zuletzt möchte ich meinem Mann Golo und meinen Kindern für ihre unermüdliche Motivation, ihre Geduld und ihren Optimismus danken. Ich danke meiner Mutter, Schwiegermutter und Schwester, die meine Kinder fürsorglich betreut haben. Ohne die große Unterstützung meiner Familie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

## **9. Lebenslauf**